Santé Canada Health Canada

Votre santé et votre sécurité... notre priorité. *Your health and safety... our priority.*

Projet de décision d'homologation PRD2018-16

Souche BU1814 de *Bacillus subtilis* et préparations commerciales connexes

(also available in English)

Le 5 septembre 2018

Ce document est publié par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de
la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
I.A. 6607 D
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Internet : Canada.ca/les-pesticides
hc.pmra.publications-arla.sc@canada.ca
Télécopieur : 613-736-3758
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou 613-736-3799
hc.pmra.info-arla.sc@canada.ca

Canada

ISSN : 1925-0894 (imprimée)
1925-0908 (en ligne)

Numéro de catalogue : H113-9/2018-16F (publication imprimée)
H113-9/2018-16F-PDF (version PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par la ministre de Santé Canada, 2018

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou du produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, reproduction électronique ou mécanique, photocopie, enregistrement sur support magnétique ou autre, ou de la verser dans un système de recherche documentaire, sans l'autorisation écrite préalable du ministre de Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0S5.

Table des matières

Aperçu 1
Projet de décision d'homologation concernant la souche BU1814 de *Bacillus subtilis* 1
Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada 1
Qu'est-ce que la souche BU1814 de *Bacillus subtilis*? 2
Considérations relatives à la santé 2
Considérations relatives à l'environnement 4
Considérations relatives à la valeur 5
Mesures de réduction des risques 5
Principales mesures de réduction des risques 5
Prochaines étapes 6
Autres renseignements 6
Évaluation scientifique 7
1.0 Le principe actif, ses propriétés et ses utilisations 7
1.1 Description du principe actif 7
1.2 Propriétés chimiques et physiques du principe actif et de ses préparations commerciales 8
1.3 Mode d'emploi 9
1.4 Mode d'action 9
2.0 Méthodes d'analyse 9
2.1 Méthodes d'identification du microorganisme 9
2.2 Méthodes de détermination de la pureté de la souche 10
2.3 Méthodes de détermination du contenu en microorganismes du matériel destiné à la fabrication des produits formulés 10
2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables et non viables) du microorganisme (principe actif) et des métabolites d'intérêt 10
2.5 Méthodes de détermination des impuretés d'intérêt dans le matériel fabriqué 10
2.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme 11
3.0 Effets sur la santé humaine et animale 11
3.1 Résumé des données relatives à la toxicité et à l'infectiosité 11
3.1.1 Essais 11
3.1.2 Renseignements supplémentaires 17
3.1.3 Déclarations d'incident concernant la santé humaine et animale 18
3.1.4 Analyse des dangers 18
3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieux professionnel et résidentiel et à l'exposition occasionnelle 19
3.2.1 Exposition professionnelle et risques connexes 19
3.2.2 Exposition en milieu résidentiel, exposition occasionnelle et risques connexes 20
3.3 Évaluation de l'exposition par le régime alimentaire et des risques connexes 20
3.3.1 Aliments 20
3.3.2 Eau potable 21
3.3.3 Risques aigus et chroniques liés à l'exposition par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles 21
3.3.4 Exposition globale et risques connexes 21
3.3.5 Limites maximales de résidus 22

3.4 Effets cumulatifs 22
4.0 Effets sur l'environnement 23
4.1 Devenir et comportement dans l'environnement 23
4.2 Effets sur les espèces non ciblées 24
4.2.1 Effets sur les organismes terrestres 25
4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques 26
4.3 Déclarations d'incident concernant l'environnement 27
5.0 Valeur 27
6.0 Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires 28
6.1 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 28
6.2 Produits de formulation et contaminants préoccupants pour la santé 28
7.0 Résumé 29
7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'il est fabriqué 29
7.2 Santé et sécurité humaines 30
7.3 Risques pour l'environnement 31
7.4 Valeur 31
8.0 Projet de décision d'homologation 32
Liste des abréviations 33
Annexe I Tableaux et figures 35
Tableau 1.1 Profil de toxicité de la souche BU1814 de Bacillus subtilis de qualité technique 35
Tableau 1.2 Profil de toxicité de BAS 154 U ST et Velondis Plus 37
Tableau 1.3 Profil de toxicité de BAS 100 U ST et Velondis Flex 38
Tableau 1.4 Profil de toxicité de Velondis Extra 39
Tableau 2 Toxicité de la souche BU1814 de Bacillus subtilis pour les espèces non ciblées 40
Tableau 3 Liste des utilisations étayées 40
Références 43

Aperçu

Projet de décision d'homologation concernant la souche BU1814 de *Bacillus subtilis*

En vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* et de ses règlements d'application, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada propose l'homologation à des fins de vente et d'utilisation de la souche BU1814 de *Bacillus subtilis* de qualité technique et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, contenant comme principe actif de qualité technique la souche BU1814 de *B. subtilis*, pour le traitement des semences de maïs, de soja et de blé afin de réprimer totalement ou partiellement les agents pathogènes du sol qui causent des maladies des semences et des semis.

Après l'évaluation des renseignements scientifiques à sa disposition, l'ARLA juge que, dans les conditions d'utilisation approuvées, les risques pour la santé et l'environnement liés aux produits antiparasitaires contenant cette souche de *B. subtilis* et la valeur de ces produits sont acceptables.

La section Aperçu décrit les principaux points de l'évaluation, tandis que la section Évaluation scientifique présente des renseignements techniques détaillés sur les évaluations des risques pour la santé humaine et pour l'environnement, ainsi que sur la valeur de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra.

Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada

L'objectif premier de la *Loi sur les produits antiparasitaires* est de prévenir les risques inacceptables pour les personnes et l'environnement que présente l'utilisation des produits antiparasitaires. Les risques sanitaires ou environnementaux sont acceptables[1] s'il existe une certitude raisonnable qu'aucun dommage à la santé humaine, aux générations futures ou à l'environnement ne résultera de l'exposition au produit ou de l'utilisation de celui-ci, compte tenu des conditions d'homologation proposées. La Loi exige aussi que les produits aient une valeur[2] lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur leur étiquette. Les conditions d'homologation peuvent comprendre l'ajout de mises en garde particulières sur l'étiquette d'un produit en vue de réduire davantage les risques.

Pour en arriver à une décision, l'ARLA applique des méthodes et des politiques modernes et rigoureuses d'évaluation des risques. Ces méthodes tiennent compte des caractéristiques uniques des sous-populations humaines sensibles (par exemple, les enfants) et des organismes présents

---

1 « Risques acceptables » tels que définis au paragraphe 2(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

2 « Valeur » telle que définie au paragraphe 2(1) de la *Loi sur les produits antiparasitaires* : « L'apport réel ou potentiel d'un produit dans la lutte antiparasitaire, compte tenu des conditions d'homologation proposées ou fixées, notamment en fonction : a) de son efficacité; b) des conséquences de son utilisation sur l'hôte du parasite sur lequel le produit est destiné à être utilisé; et c) des conséquences de son utilisation sur l'économie et la société de même que de ses avantages pour la santé, la sécurité et l'environnement. »

dans l'environnement. Les méthodes et les politiques tiennent également compte de la nature des effets observés et de l'incertitude des prévisions concernant les répercussions de l'utilisation des pesticides. Pour obtenir de plus amples renseignements sur la façon dont l'ARLA réglemente les pesticides, sur le processus d'évaluation et sur les programmes de réduction des risques, veuillez consulter la section Pesticides du site Web Canada.ca.

Avant de rendre une décision finale concernant l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, l'ARLA examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation[3]. L'ARLA publiera ensuite un document de décision d'homologation[4] concernant la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales connexes, dans lequel elle présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du Projet de décision d'homologation et sa réponse à ces commentaires.

Afin d'obtenir des précisions sur les renseignements exposés dans la section Aperçu, veuillez consulter la section Évaluation scientifique du présent document de consultation.

Qu'est-ce que la souche BU1814 de *Bacillus subtilis*?

La souche BU1814 de *B. subtilis* est une bactérie d'origine naturelle. Elle agit en colonisant rapidement les semences en germination et le système racinaire en développement. Elle produit une barrière physique qui contre les champignons pathogènes et produit des composants antimicrobiens qui favorisent la résistance systémique induite à l'intérieur de la plante. On l'emploie de façon préventive afin de réprimer totalement ou partiellement des agents pathogènes transmis par le sol qui peuvent causer des maladies des semis de maïs, de soja et de blé.

Considérations relatives à la santé

Les utilisations approuvées de la souche BU1814 de *B. subtilis* peuvent-elles nuire à la santé humaine?

Il est peu probable que la souche BU1814 de *B. subtilis* affecte la santé humaine lorsque BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.

---

3 « Énoncé de consultation » conformément au paragraphe 28(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

4 « Énoncé de décision » conformément au paragraphe 28(5) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

L'exposition potentielle à la souche BU1814 de *B. subtilis* peut se produire lors de la manipulation et de l'application des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra. Au moment d'évaluer les risques pour la santé, plusieurs facteurs importants sont pris en considération :

- les propriétés biologiques du microorganisme (par exemple, la production de sous-produits toxiques);
- les déclarations d'incident;
- son potentiel pathogène ou toxique, tel qu'il est déterminé dans les études toxicologiques;
- le degré d'exposition possible à cette souche par comparaison avec le degré d'exposition possible à d'autres souches de ce microorganisme déjà isolées dans la nature.

Les doses utilisées pour évaluer les risques sont établies de façon à protéger les sous-populations humaines les plus sensibles (par exemple, les enfants et les mères qui allaitent). Pour cette raison, le sexe et le genre sont pris en considération dans l'évaluation des risques. Seules les utilisations entraînant une exposition à des doses bien inférieures à celles n'ayant eu aucun effet chez les animaux de laboratoire sont considérées comme acceptables à des fins d'homologation.

Les études effectuées sur des animaux de laboratoire permettent de décrire les effets sur la santé qui pourraient découler de l'exposition à des doses importantes d'un microorganisme et de relever toute préoccupation en matière de pathogénicité, d'infectivité et de toxicité. Les essais réalisés sur des animaux de laboratoire avec la souche BU1814 de *B. subtilis* n'ont révélé aucun signe de maladie ou de toxicité importante.

Résidus dans l'eau et les aliments

Les risques liés à la consommation d'eau et d'aliments ne sont pas préoccupants.

Il ne devrait pas y avoir de risque pour la santé de la population générale, y compris les nourrissons et les enfants, découlant de l'exposition par le régime alimentaire (aliments et eau potable), d'après le profil d'emploi et les conditions d'utilisation.

Risques en milieu résidentiel et autres milieux non professionnels

Le risque estimatif lié à l'exposition non professionnelle n'est pas jugé préoccupant.

L'utilisation de BAS 154 U ST, de BAS 100 U ST, de Velondis Plus, de Velondis Flex et de Velondis Extra est proposée pour le traitement commercial des semences. Par conséquent, il est peu probable que les adultes, les jeunes et les tout-petits soient exposés à la souche BU1814 de *B. subtilis*. Même en cas d'exposition, le risque pour la population générale n'est pas préoccupant, car on n'a relevé aucun signe de maladie ou de toxicité importante dans les études menées sur des animaux de laboratoire.

Risques professionnels liés à la manipulation des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra

Les risques professionnels ne sont pas préoccupants lorsque BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra sont utilisés conformément au mode d'emploi proposé sur leur étiquette respective et qui comprend des mesures de protection.

Les travailleurs qui manipulent BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra peuvent entrer en contact direct avec la souche BU1814 de *B. subtilis* par la peau, par les yeux ou par inhalation. Par conséquent, l'étiquette du produit précisera que les travailleurs doivent porter un équipement de protection individuelle, soit des gants résistant aux produits chimiques, un vêtement à manches longues, un pantalon long, un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire, des chaussettes et des chaussures.

Considérations relatives à l'environnement

Qu'arrive-t-il lorsque la souche BU1814 de *B. subtilis* est introduite dans l'environnement?

Les risques pour l'environnement ne sont pas préoccupants.

Bacillus subtilis est un microorganisme commun qui est largement répandu dans l'environnement naturel. Son habitat est principalement le sol, y compris les sols dans les colonnes d'eau et les dépôts de fond dans les milieux aquatiques. Dans des conditions défavorables, ce microorganisme produit une endospore résiliente qui lui permet de survivre facilement dans les sols, les poussières et les aérosols. Si elles sont protégées de la lumière du soleil, les endospores peuvent survivre très longtemps.

BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra sont destinés à être utilisés pour le traitement des semences du maïs (tous les types), de soja et de blé. Les préparations commerciales ne sont pas destinées à des utilisations aquatiques. On ne s'attend pas à ce que l'emploi de ces préparations commerciales pour le traitement des semences augmente de façon notable les concentrations de ce microorganisme dans le sol. L'exposition par les milieux aquatiques devrait également être faible et limitée au lessivage et au ruissellement après l'ensemencement des graines dans les champs. La littérature scientifique publiée sur le devenir dans l'environnement de cette espèce indique que la souche BU1814 survivra dans les sols et les sédiments dans diverses conditions environnementales. Avec le temps, les populations de la souche BU1814 de *B. subtilis* dans le sol et les sédiments devraient revenir à des niveaux naturellement durables.

D'après un examen critique des études et des renseignements provenant de sources publiques, aucun effet important sur les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes terrestres et aquatiques non ciblés et les plantes n'est prévu lorsque BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra sont appliqués conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.

Considérations relatives à la valeur

Quelle est la valeur de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra?

Pour ce qui est des allégations concernant le blé et les allégations concernant *Pythium* pour le soja, ces produits constitueront la première solution non classique et pourraient être utiles à l'industrie biologique.

La souche BU1814 de *B. subtilis* représente un nouveau mode d'action pour les maladies des semences et des semis du blé causées par *Fusarium*, *Rhizoctonia solani* et *Cochliobolus sativus*, et pour les maladies des semences et des semis du soja causées par *Pythium ultimum*.

Mesures de réduction des risques

Les étiquettes des contenants des produits antiparasitaires homologués précisent le mode d'emploi de ces produits. On y trouve notamment des mesures de réduction des risques visant à protéger la santé humaine et l'environnement. Les utilisateurs sont tenus par la loi de s'y conformer.

Les principales mesures de réduction des risques proposées sur les étiquettes de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour traiter les risques potentiels relevés dans la présente évaluation sont exposées ci-après.

Principales mesures de réduction des risques

Santé humaine

Tous les microorganismes, y compris la souche BU1814 de *B. subtilis*, contiennent des substances qui sont des sensibilisants potentiels; par conséquent, une sensibilité respiratoire et cutanée peut se développer chez les personnes exposées à des quantités potentiellement importantes de la souche BU1814 de *B. subtilis*. Par ailleurs, les travailleurs qui manipulent ou appliquent BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra doivent porter des gants résistant aux produits chimiques, un vêtement à manches longues, un pantalon long, un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire, des chaussettes et des chaussures.

Environnement

Les étiquettes des préparations commerciales comporteront des mises en garde visant à protéger l'environnement en interdisant les pulvérisations aériennes et en réduisant la contamination des systèmes aquatiques découlant de l'utilisation de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra.

Prochaines étapes

Avant de rendre une décision finale concernant l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, l'ARLA examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation. Elle acceptera les commentaires écrits au sujet du présent projet de décision pendant une période de 45 jours à compter de sa date de publication. Veuillez faire parvenir tout commentaire aux Publications, dont les coordonnées se trouvent sur la page couverture du présent document. L'ARLA publiera ensuite un document de décision d'homologation dans lequel elle présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du Projet de décision d'homologation et sa réponse à ces commentaires.

Autres renseignements

Une fois qu'elle aura pris sa décision concernant l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales connexes, l'ARLA publiera un document de décision d'homologation (reposant sur l'Évaluation scientifique qui suit). En outre, les données confidentielles des essais cités en référence seront mises à la disposition du public, sur demande, dans la salle de lecture de l'ARLA située à Ottawa.

Évaluation scientifique

Souche BU1814 de *Bacillus subtilis*, BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra

1.0 Le principe actif, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description du principe actif

Microorganisme actif	Souche BU1814 de *Bacillus subtilis*
Fonction	Biofongicide – Pour la répression complète ou partielle de certaines maladies des semences et des semis dans le maïs, le soja et le blé.
Nom binomial	Souche BU1814 de *Bacillus subtilis*
Désignation taxonomique[5]	
Règne	Eubactéries
Embranchement	Firmicutes
Classe	Bacilles
Ordre	Bacillalaes
Famille	Bacillaceae
Genre	*Bacillus*
Espèce	*subtilis*
Souche	BU1814
Renseignement sur l'état des brevets	Brevet canadien numéro 2791478
Pureté nominale du principe actif	Principe actif de qualité technique : minimum de 5×10^{10} spores viables/g Préparations commerciales : BAS 154 U ST et Velondis Plus contiennent la souche BU1814 de *B. subtilis*, $1,4 \times 10^{9}$ UFC/mL[6]; BAS 100 U ST et Velondis Flex contiennent la souche BU1814 de *B. subtilis*, $1,4 \times 10^{9}$ UFC/mL; Velondis Extra contient la souche BU1814 de *B. subtilis*, $1,76 \times 10^{8}$ UFC/mL[7].

5 National Center for Biotechnology Information - Taxonomy Browser (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy).

6 Ces préparations commerciales contiennent également la souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens*, $1,4 \times 10^{10}$ UFC/mL. L'utilisation de la souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens* pour le traitement des semences a déjà été évaluée et approuvée par l'ARLA (voir le document PRD2009-17).

7 Cette préparation commerciale contient également la souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens*, $1,76 \times 10^{10}$ UFC/mL. L'utilisation de la souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens* pour le traitement des semences a déjà été évaluée et approuvée par l'ARLA (voir le document PRD2009-17).

Nature des impuretés pertinentes d'importance toxicologique, environnementale ou autre	Le principe actif de qualité technique ne contient pas d'impuretés ou de microcontaminants réputés être des substances de la voie 1 visées par la Politique de gestion des substances toxiques. Le produit doit respecter les normes de rejets de contaminant microbiologique. En outre, on ne connaît aucune toxine ni aucun métabolite toxique pour les mammifères qui sont présents dans le principe actif de qualité technique ou les préparations commerciales.

1.2 Propriétés chimiques et physiques du principe actif et de ses préparations commerciales

Produit technique – Souche BU1814 de *Bacillus subtilis* technique

Propriété	Résultat
Couleur	Brun pâle
État physique	Poudre
Odeur	Moisissure et levure
Caractéristiques de corrosion	Non corrosif pour les contenants en plastique
pH (1 %)	6,36 à 20,5 °C
Densité relative	0,4269 g/mL

Préparation commerciale – BAS 154 U ST et Velondis Plus

Propriété	Résultat
Couleur	Brun pâle opaque
État physique	Liquide épais
Odeur	Moisissure et levure
Viscosité	Thixotrope à 20 °C
pH (1 %)	5,98
Densité relative	1,166 g/cm^3

Préparation commerciale – BAS 100 U ST et Velondis Flex

Propriété	Résultat
Couleur	Brun opaque
État physique	Liquide épais
Odeur	Moisissure et levure
Viscosité	Thixotrope à 20 °C
pH (1 %)	5,89
Densité relative	1,160 g/cm^3

Préparation commerciale – Velondis Extra

Propriété	Résultat
Couleur	Brun pâle opaque
État physique	Liquide épais
Odeur	Moisissure et levure
Viscosité	Thixotrope à 20 °C
pH (1 %)	6,12
Densité relative	1,165 g/cm^3

1.3 Mode d'emploi

BAS 100 U ST, contenant la souche BU1814 de *B. subtilis*, doit être appliqué sur le maïs, le soja et le blé. Velondis Extra, une coformulation contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* et la souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens*, doit être appliqué sur le maïs. BAS 154 U ST, une coformulation contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens*, doit être appliqué sur le soja. Velondis Flex, contenant la souche BU1814 de *B. subtilis*, doit être appliqué sur le blé. Velondis Plus, une coformulation contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens*, doit être appliqué sur le soja. Ces produits sont appliqués pour le traitement des semences afin de réprimer totalement ou partiellement les agents pathogènes transmis par le sol qui causent des maladies des semences et des semis. Les produits sont appliqués à raison de 2,5 à 22 mL/100 kg semence.

1.4 Mode d'action

La souche BU1814 de *B. subtilis* est une rhizobactérie favorisant la croissance des plantes qui colonise les racines et les pousses, et réprime ainsi l'établissement des champignons pathogènes par exclusion compétitive et déplacement. La souche BU1814 de *B. subtilis* est une bactérie d'origine naturelle. Elle agit en colonisant rapidement les semences en germination et le système racinaire en développement. Elle produit un biofilm qui constitue une barrière physique contre les champignons pathogènes et produit des composants antimicrobiens favorisant la résistance systémique induite à l'intérieur de la plante. Le risque d'acquisition de résistance pour ce principe actif est jugé faible, étant donné son mode d'action.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'identification du microorganisme

Le demandeur a soumis des méthodes acceptables pour la détection, l'isolement et le dénombrement du principe actif, la souche BU1814 de *B. subtilis*. L'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA) a été entièrement caractérisé en ce qui a trait à l'origine de la souche, à son abondance naturelle et à ses propriétés biologiques. La souche BU1814 de *B. subtilis* se distingue des autres agents de lutte biologique, en raison d'une morphologie de colonie unique. Des méthodes d'identification des souches par séquençage de plusieurs gènes domestiques sont également en cours de développement pour la souche BU1814 de *B. subtilis*.

2.2 Méthodes de détermination de la pureté de la souche

La souche a été déposée dans l'American Type Culture Collection (ATCC) sous le numéro ATCC PTA11847. Les cultures mères sont conservées à -70 °C. Une banque de cellules maîtresses est également entretenue de façon appropriée par le fabricant. Une culture mère séparée est préparée, à partir de laquelle une banque de cellules de travail est constituée à des fins de fabrication.

Des méthodes acceptables pour l'établissement de la pureté, de la viabilité et de la stabilité génétique des banques ont été décrites.

2.3 Méthodes de détermination du contenu en microorganismes du matériel destiné à la fabrication des produits formulés

La garantie du principe actif de qualité technique est exprimée en unités de spores viables par gramme (g), et les garanties des préparations commerciales sont exprimées en unités formatrices de colonies (UFC) par mL. Des données représentatives sur cinq lots de principe actif de qualité technique et sur chaque préparation commerciale ont été présentées. Les méthodes de détermination du nombre de spores viables et du nombre d'UFC ont été décrites adéquatement.

2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables et non viables) du microorganisme (principe actif) et des métabolites d'intérêt

Comme il est indiqué ci-dessus, il existe des méthodes acceptables pour dénombrer les microorganismes et pour distinguer cet AMLA des autres espèces du genre *Bacillus*.

2.5 Méthodes de détermination des impuretés d'intérêt dans le matériel fabriqué

Les procédures d'assurance de la qualité utilisées pour limiter la contamination des microorganismes lors de la fabrication de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, sont acceptables. Ces procédures comportent la stérilisation de tout l'équipement et des milieux, ainsi qu'un échantillonnage fréquent de la culture mère et des lots de production pour en déterminer la pureté et le degré de contamination.

Une absence d'agents pathogènes humains ainsi que des concentrations de microorganismes contaminants inférieures au seuil de détection ont été démontrées dans les lots de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et dans les préparations commerciales à l'aide de méthodes normalisées de détection et de dénombrement des contaminants microbiens préoccupants. Tous les lots de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et tous les lots de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra sont conformes aux limites établies dans le document de l'Organisation de coopération et de développement économiques sur les contaminants microbiens pour les produits antiparasitaires microbiens [ENV/JM/MONO(2011)43].

2.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme

Des données acceptables sur la stabilité à l'entreposage n'ont pas été fournies pour la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique ou pour les préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra. Au lieu des données, des énoncés par défaut concernant l'entreposage figureront sur les étiquettes pour préciser que le principe actif de qualité technique et les préparations commerciales doivent être entreposés dans des contenants scellés à ≤ 4 °C pendant au plus 6 mois.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

3.1 Résumé des données relatives à la toxicité et à l'infectiosité

3.1.1 Essais

L'ARLA a effectué un examen détaillé des études toxicologiques présentées à l'appui de l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et des préparations commerciales connexes, BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra.

En plus de la souche BU1814 de *B. subtilis*, trois des préparations commerciales (BAS 154 U ST, Velondis Plus et Velondis Extra) contiennent également le principe actif de qualité technique homologué « souche MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens* » (numéro d'homologation 29452) comme principe coactif. L'utilisation de la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* pour le traitement des semences a déjà été évaluée et approuvée par l'ARLA sous le nom « souche MBI 600 de *Bacillus subtilis* ». Consulter le Projet de décision d'homologation PRD2009-17 pour plus de détails sur cet examen.

Souche BU1814 de *Bacillus subtilis* de qualité technique
Les études soumises pour satisfaire aux exigences relatives à l'évaluation des dangers pour la santé liés à la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique comprenaient une étude d'infectivité/toxicité aiguë par voie orale, une étude d'infectivité/toxicité pulmonaire aiguë et une étude d'infectivité aiguë par injection intraveineuse. Les substances utilisées pour l'essai étaient BAS 100 U et *B. subtilis* UD1022 BU1814, qui sont considérés comme équivalents sur le plan toxicologique à la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique.

Dans l'étude d'infectivité/toxicité aiguë par voie orale, des groupes de jeunes rats adultes Sprague-Dawley (12/sexe) ont été exposés par gavage oral à BAS 100 U ($1{,}37 \times 10^{11}$ UFC/g) dans une solution stérile d'eau peptonée tamponnée au phosphate à une dose de $2{,}5 \times 10^{8}$ UFC/animal. Les animaux ont été observés pendant 21 jours, et des sacrifices ont été réalisés aux jours -1, 0, 7, 14 et 21 pour permettre l'évaluation de l'élimination microbienne. Il n'y a pas eu de mortalité ou d'anomalie lors de l'examen macroscopique à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids et semblaient normaux pendant la durée de l'étude. Le microorganisme à l'étude n'a été retrouvé ni dans le sang ni dans les tissus des animaux traités à quelque moment que ce soit. Le microorganisme à l'étude avait été éliminé du contenu du

cæcum au jour 7. Le principe actif de qualité technique était principalement non absorbé et éliminé dans les selles après l'administration d'une dose unique élevée par voie orale. Toute quantité de la substance à l'étude qui avait été absorbée a été éliminée dans les urines au cours des 24 heures suivant l'administration de la dose.

Dans l'étude d'infectivité/toxicité pulmonaire aiguë, des groupes de jeunes rats adultes Sprague-Dawley (15/sexe) ont été exposés par voie intratrachéale à BAS 100 U ($1,37 \times 10^{11}$ UFC/g) dans une solution stérile d'eau peptonée tamponnée au phosphate à une dose de $1,4 \times 10^{8}$ UFC/animal. Les animaux ont été observés pendant 21 jours, et des sacrifices ont été réalisés aux jours 0, 7, 14 et 21 pour permettre l'évaluation de l'élimination microbienne. Il n'y a pas eu de mortalité ou d'effet lié au traitement lors de l'examen macroscopique à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids et semblaient normaux pendant la durée de l'étude. La substance à l'étude avait été éliminée de tous les tissus et organes, y compris les poumons des animaux, au jour 14. Un profil d'élimination a été établi pour le contenu du cæcum au jour 21.

Dans l'étude d'infectivité aiguë par voie intraveineuse, des groupes de rats Sprague-Dawley (13/sexe) ont reçu *B. subtilis* UD1022 BU1814 ($3,3 \times 10^{8}$ UFC/mL) dans une solution stérile saline tamponnée au phosphate à une dose de $3,3 \times 10^{7}$ UFC/rat par injection intraveineuse. Les animaux ont été observés pendant 42 jours, et des sacrifices ont été réalisés aux jours 0, 7, 14, 21, 28, 35 et 42 pour permettre l'évaluation de l'élimination microbienne. Il n'y a eu aucune mortalité, et tous les animaux ont paru normaux pendant toute la durée de l'étude. Bien que certaines différences statistiquement significatives dans la prise pondérale et le poids relatif des organes chez les femelles (ganglions lymphatiques mésentériques, foie, rein) et chez les deux sexes (rein) ont été notés entre les groupes traités, les résultats ne sont pas significatifs sur le plan toxicologique. La substance à l'étude a été éliminée du sang, du contenu du cæcum, du cerveau, des ganglions lymphatiques mésentériques, des poumons et des reins au jour 28 ou avant. Un profil d'élimination avait été établi pour le foie et la rate au jour 42.

Une étude de toxicité aiguë par voie orale, une étude de toxicité aiguë par voie cutanée, une étude d'irritation cutanée et une étude d'irritation oculaire avec *B. subtilis* UD1022 BU1814 ont également été soumises, en plus des études requises pour appuyer l'homologation du principe actif de qualité technique.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale, trois jeunes rates adultes Sprague-Dawley à jeun ont reçu une dose unique par voie orale de *B. subtilis* UD1022 BU1814 (40 % p/v dans l'eau; pureté non indiquée) à une dose de 5 000 mg/kg p.c., selon la méthode d'ajustement des doses. Les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a pas eu de mortalité ni de signes cliniques ou d'anomalies à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie cutanée, un groupe de jeunes rats adultes Sprague-Dawley (5/sexe) a été exposé par voie cutanée à *B. subtilis* UD1022 BU1814 (principe actif de qualité technique; pureté non indiquée), humidifié avec de l'eau à 5 050 mg/kg p.c., appliqué sur une superficie égale à environ 10 % de la surface corporelle totale, pendant 24 heures. Après la période d'exposition de 24 heures, le site traité a été lavé délicatement et les animaux ont été observés pendant 14 jours à la recherche de signes de toxicité

et d'irritation cutanée. Il n'y a eu aucune mortalité, aucun signe clinique de toxicité ou d'irritation cutanée, ni aucune anomalie observable à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Dans l'étude d'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapins néo-zélandais blancs adultes (1 mâle, 2 femelles) ont été exposés par voie cutanée à 500 mg de *B. subtilis* UD1022 BU1814 (principe actif de qualité technique; pureté non indiquée) dans 0,5 mL d'eau désionisée pendant 4 heures sur une superficie de 8 cm × 8 cm. La zone exposée a été recouverte d'une plaque de gaze et d'un pansement semi-perméable pendant la période d'exposition. Après 4 heures, la zone exposée a été lavée. Les animaux ont été observés pendant 72 heures et ont été évalués pour déterminer l'irritation par le test de Draize. Aucun érythème ni œdème n'a été observé lors de l'étude. Dans cette étude, *B. subtilis* UD1022 BU1814 n'était pas un irritant cutané.

Dans l'étude d'irritation oculaire primaire, 100 mg de *B. subtilis* UD1022 BU1814 (pureté non indiquée) ont été instillés directement dans le sac conjonctival de l'œil droit de trois jeunes lapins néo-zélandais blancs adultes (1 mâle; 2 femelles), pour 24 heures. Tous les yeux traités ont été lavés avec de l'eau désionisée à la température ambiante pendant une minute après que les observations après 24 heures ont été consignées. Les animaux ont été observés pendant 3 jours et évalués pour déterminer l'irritation oculaire par le test de Draize. Une rougeur et un écoulement étaient visibles dans tous les yeux traités au temps d'observation de 1 heure. L'irritation avait disparu après 24 heures. D'après la cote d'irritation maximale (CIM) de 6,0/110 à 1 heure, *B. subtilis* UD1022 BU1814 a été classé comme « minimalement irritant » pour les yeux.

BAS 154 U ST et Velondis Plus

Les études soumises pour satisfaire aux exigences relatives à l'évaluation des dangers pour la santé liés aux préparations commerciales BAS 154 U ST et Velondis Plus comprenaient les études de toxicité cutanée, d'irritation cutanée et d'irritation oculaire. Bien qu'elles n'aient pas été obligatoires, des études de toxicité aiguë par voie orale et des études de toxicité aiguë par inhalation ont également été menées. La substance utilisée pour l'essai, BAS 154 01 U, est considérée comme équivalente sur le plan toxicologique à BAS 154 U ST et à Velondis Plus.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie cutanée, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley adultes (5/sexe) ont été exposés par voie cutanée à BAS 154 01 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c., sur une superficie représentant environ 10 % de la surface corporelle, pendant 24 heures. Après l'exposition, la zone exposée a été lavée et les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité. Mis à part un très léger érythème chez un mâle (jour 1), aucun autre signe clinique ou comportement anormal n'a été observé. Aucune anomalie n'a été constatée lors de l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids tout au long de l'étude.

Dans une étude d'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapines néo-zélandaises albinos adultes ont été exposées par voie cutanée à 0,5 mL de BAS 154 01 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL) sur une superficie représentant 10 % de la surface corporelle, pendant 4 heures. La zone exposée était recouverte d'un pansement semi-occlusif. Après la période

d'exposition de 4 heures, le pansement a été retiré et la zone exposée a été nettoyée avec un tampon. Durant la période d'observation de 3 jours qui a suivi, l'irritation a été évaluée selon le test de Draize. Un très léger érythème a été observé chez l'un des trois animaux à l'intervalle de 30 à 60 minutes. La CIM (à 1 h) était de 0,33/8. Toutes les irritations avaient été résorbées en 24 heures. La cote moyenne maximale (CMM) était de 0/8. Dans cette étude, BAS 154 01 U était minimalement irritant pour la peau.

Dans l'étude d'irritation oculaire primaire, 0,1 mL de BAS 154 01 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL) a été instillé dans le sac conjonctival de l'œil droit chez trois jeunes lapines néo-zélandaises blanches adultes, pour 24 heures. Les yeux ont été lavés avant l'établissement de la cote à 24 heures. Durant la période d'observation de 3 jours qui a suivi, l'irritation a été évaluée selon le test de Draize. Une heure après l'instillation de la substance à l'étude, on a observé une rougeur conjonctivale, un chémosis et un écoulement conjonctival. Tous les signes d'irritation oculaire étaient disparus au bout de 24 heures. La CMM était de 0/110 et la CIM (à 1 h) était de 4,67/110. Dans cette étude, BAS 154 01 U était minimalement irritant pour les yeux.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale, trois jeunes rates Sprague-Dawley adultes, à jeun, ont reçu une dose unique par voie orale de BAS 154 01 U (souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c., selon la méthode d'ajustement des doses. Les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité ni aucune anomalie observable lors de l'examen macroscopique à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation, un groupe de jeunes rats Sprague-Dawley adultes (5/sexe) a été exposé par inhalation à BAS 154 01 U (contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL) pendant 4 heures par voie nasale seulement à une concentration de 2,13 mg/L. Les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité ni aucune anomalie observable lors de l'examen macroscopique à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Les rats avaient tous une respiration irrégulière après l'exposition, mais ils s'étaient tous rétablis après le jour 1 et ont semblé être bien portants jusqu'à la fin de la période de 14 jours.

BAS 100 U ST et Velondis Flex

Les études soumises pour satisfaire aux exigences relatives à l'évaluation des dangers pour la santé liés aux préparations commerciales BAS 100 U ST et Velondis Flex comprenaient des études de toxicité cutanée, d'irritation cutanée et d'irritation oculaire. Bien qu'elles n'aient pas été obligatoires pour l'homologation, des études de toxicité aiguë par voie orale et de toxicité aiguë par inhalation ont également été menées. La substance utilisée pour les essais, BAS 100 02 U, est considérée comme équivalente sur le plan toxicologique à BAS 100 U ST et à Velondis Flex.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie cutanée, des groupes de jeunes rats adultes Sprague-Dawley (5/sexe) ont été exposés par voie cutanée à BAS 100 02 U (souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c. sur une superficie représentant environ

10 % de la surface corporelle, pendant 24 heures. Après la période d'exposition de 24 heures, la zone exposée a été lavée et les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité, aucun signe clinique ou comportement anormal chez les animaux, et aucune anomalie n'a été constatée lors de l'autopsie. Tous les animaux ont pris du poids tout au long de l'étude.

Dans l'étude d'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapines néo-zélandaises blanches adultes ont été exposées par voie cutanée à 0,5 mL de BAS 100 02 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL) pendant 4 heures sur une superficie représentant environ 10 % de la surface corporelle. La zone exposée était recouverte d'un pansement semi-occlusif. L'irritation a été déterminée entre 30 à 60 minutes et à 24, 48 et 72 heures, selon le test de Draize. Après la période d'exposition de 4 heures, le pansement a été retiré et la zone exposée a été nettoyée délicatement avec une solution savonneuse à 3 %. Un très léger érythème et œdème ont été observés chez l'un des trois animaux au temps d'observation de 24 heures. Toutes les irritations s'étaient résorbées en 48 heures. Tous les animaux semblaient actifs et en bonne santé et ont pris du poids au cours de l'étude. Aucun autre signe de toxicité manifeste ni aucun effet clinique nocif ou comportement anormal n'ont été observés tout au long de l'étude. La CIM (à 24 h) était de 0,67/8 et la CMM était de 0,22/8. Dans cette étude, BAS 100 02 U était minimalement irritant pour la peau.

Dans l'étude d'irritation oculaire primaire, 0,1 mL de BAS 100 02 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL) a été instillé dans le sac conjonctival de l'œil droit de trois jeunes lapines néo-zélandaises albinos adultes, pour 24 heures. L'œil traité de chaque lapine a été rincé à l'aide d'une solution saline physiologique avant la procédure à la fluorescéine de 24 heures pour l'établissement de la cote. Les animaux ont été observés pendant trois jours et l'irritation a été évaluée selon le test de Draize. Une heure après l'instillation de la substance à l'étude, un œil présentait une rougeur conjonctivale (niveau 1) et un autre œil présentait un chémosis (niveau 1) avec un écoulement conjonctival (niveaux 1 et 2). Tous les signes d'irritation oculaire étaient disparus au bout de 24 heures. Dans cette étude, BAS 100 02 U était minimalement irritant pour les yeux. La CIM (à 1 h) était de 2/110 et la CMM était de 0/110.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale, trois rates Sprague-Dawley à jeun ont reçu une dose unique par voie orale de BAS 100 02 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c. selon la méthode d'ajustement des doses. Par la suite, les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a pas eu de mortalité, de signe de toxicité manifeste ou de comportement anormal, et aucune anomalie n'a été constatée lors de l'autopsie. Tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation, des groupes de jeunes rats adultes (5/sexe) ont été exposés par inhalation à BAS 100 02 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL) pendant 4 heures par voie nasale seulement, à une concentration de 2,19 mg/L. Les animaux ont ensuite été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité. Certains animaux présentaient une respiration irrégulière à la suite de l'exposition, mais s'étaient rétablis au jour 1. Tous les animaux semblaient normaux jusqu'à la fin de l'étude. Il n'y a pas eu d'anomalies à l'autopsie à la fin de l'étude, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Velondis Extra
Les études soumises pour satisfaire aux exigences de l'évaluation des dangers pour la santé liés à la préparation commerciale Velondis Extra comprenaient des études de toxicité cutanée, d'irritation cutanée et d'irritation oculaire. Bien qu'elles n'aient pas été obligatoires pour l'homologation, des études de toxicité aiguë par voie orale et de toxicité aiguë par inhalation ont également été menées. La substance à l'étude, BAS 154 00 U, est considérée équivalente sur le plan toxicologique à Velondis Extra.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie cutanée, des groupes de jeunes rats adultes Sprague-Dawley (5/sexe) ont été exposés par voie cutanée à BAS 154 00 U (souche BU1814 de *B. subtilis* à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c., sur une superficie représentant environ 10 % de la surface corporelle, pendant 24 heures. Après l'exposition, la zone exposée a été lavée et les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité, aucun signe de toxicité ou d'irritation cutanée ni aucun comportement anormal, et aucune anomalie n'a été observée à l'autopsie.

Dans l'étude d'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapines néo-zélandaises albinos adultes ont été exposées par voie cutanée à 0,5 mL de BAS 154 00 U non dilué (souche BU1814 de *B. subtilis* à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL) pendant 4 heures sur une superficie représentant environ 10 % de la surface corporelle. La zone exposée était recouverte d'un pansement semi-occlusif. L'irritation a été déterminée entre 30 à 60 minutes et à 24, 48 et 72 heures, selon le test de Draize. Après la période d'exposition de 4 heures, le pansement a été retiré, et la zone exposée a été nettoyée délicatement avec une solution savonneuse à 3 %. Au temps d'observation de 24 heures, une zone exposée présentait un très léger érythème et un très léger œdème qui s'étaient résorbés après 48 heures. Aucune irritation cutanée n'a été observée chez les deux autres animaux au cours de l'étude et aucun autre signe de toxicité manifeste, d'effet clinique nocif ou de comportement anormal n'a été observé. La CIM (à 24 h) était de 0,67/8 et la CMM était de 0,22/8. BAS 154 00 U était minimalement irritant pour la peau.

Dans l'étude d'irritation oculaire primaire, 0,1 mL de BAS 154 00 U non dilué (*B. subtilis*, souche BU1814 à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL) a été instillé dans le sac conjonctival de l'œil droit de trois jeunes lapines néo-zélandaises albinos adultes, pour 24 heures. L'œil traité de chaque lapine a été rincé à l'aide d'une solution saline physiologique avant la procédure à la fluorescéine de 24 heures pour l'établissement de la cote. Les animaux ont ensuite été observés pendant trois jours et leur cote d'irritation oculaire a été établie selon le test de Draize. Une heure après l'instillation de la substance à l'étude, les trois yeux traités présentaient une rougeur conjonctivale et un chémosis conjonctival, et deux yeux traités présentaient un écoulement. Tous les signes d'irritation oculaire étaient disparus après 24 heures. Il n'y a eu aucun signe de toxicité manifeste, aucun effet clinique nocif, ni aucun comportement anormal. La CIM (à 1 h) était de 5,33/110 et la CMM était de 0/110. Dans cette étude, BAS 154 00 U était minimalement irritant pour les yeux.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale, trois jeunes rates adultes Sprague-Dawley à jeun ont reçu une dose unique par voie orale de BAS 154 00 U (contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL) à 5 000 mg/kg p.c., selon la méthode d'ajustement des doses. Les animaux ont été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité, aucun signe clinique de toxicité, ni aucune anomalie observable lors de l'examen macroscopique à l'autopsie, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude.

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation, de jeunes rats albinos adultes Charles River Wistar Hanover (5/sexe) ont été exposés par inhalation à BAS 154 00 U non dilué (contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL) pendant 4 heures par voie nasale seulement, à une concentration de 2,32 mg/L. Les animaux ont ensuite été observés pendant 14 jours. Il n'y a eu aucune mortalité. Quatre mâles et trois femelles présentaient une respiration irrégulière, mais s'étaient rétablis au jour 1. Tous les animaux semblaient actifs et en bonne santé jusqu'à la fin de l'étude. Tous les animaux avaient pris du poids au jour 3.

Les résultats des essais sont résumés dans les tableaux 1.1 à 1.4 de l'annexe I.

3.1.2 Renseignements supplémentaires

Une étude de la littérature publiée n'a révélé aucun rapport d'effets nocifs dus à la souche BU1814 de *B. subtilis*. Il y a eu de rares cas d'endocardite liée à *B. subtilis* et de bactériémie chez des patients immunodéficients. Dans certains cas, le microorganisme a été introduit dans des tissus sensibles par cathéter intraveineux ou par ponction lombaire. D'autres cas étaient liés à l'abus de drogues, car les narcotiques sont souvent contaminés par des bacilles. On a également supposé que l'utilisation systématique de cultures de *B. subtilis* comme support non spécifique d'une flore gastro-intestinale stable était une source possible. Des cas isolés de méningite, une infection oculaire et une infection des tibias ont également été signalés pour *B. subtilis*.

Le pain filant est également associé à *B. subtilis*, et des maladies d'origine alimentaire ont été signalées à l'occasion. D'autres intoxications alimentaires liées à *B. subtilis* sont rares, et les souches en cause produisent une toxine très stable à la chaleur (peut-être similaire à l'entérotoxine de *Bacillus cereus*). La souche BU1814 de *B. subtilis* ne produit pas cette toxine, et aucune maladie de ce type n'a été signalée avec ce microorganisme. De plus, lorsque la souche BU1814 de *B. subtilis* a été administrée par voie orale à des rats, aucun signe de toxicité ou de maladie n'a été observé. En de rares occasions, *B. subtilis* a été considéré comme la cause de maladies d'origine alimentaire pour lesquelles aucune production de toxines n'est détectée.

En médecine vétérinaire, des cas de mammite bovine, des troubles de la reproduction chez la chèvre et des cas d'endocardite canine ont été associés à *B. subtilis*.

Une pneumopathie d'hypersensibilité a été signalée à la suite de l'exposition à des cellules végétatives et à des spores de *B. subtilis* et de *Bacillus lichenformis*, libérées par de la poussière de bois en milieux domestique et industriel. La production de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique ne vise pas l'enrichissement enzymatique, et aucun effet nocif sur la santé n'a été signalé chez les travailleurs dans les sites où la souche BU1814 de *B. subtilis* est fermentée ou formulée.

3.1.3 Déclarations d'incident concernant la santé humaine et animale

Une recherche des déclarations d'incident a été effectuée pour les souches homologuées de *B. amyloliquefaciens* et de *B. subtilis*. En date du 4 mai 2018, l'ARLA avait reçu un signalement d'incident mettant en cause la souche active de *B. subtilis* chez les humains. Dans cet incident, une personne avait signalé des symptômes mineurs d'éruption cutanée et de toux à la suite de l'application d'un produit américain contenant *B. subtilis*. Étant donné qu'il s'agit d'un incident mineur mettant en cause un produit américain survenu au Canada, aucune autre mesure d'atténuation des risques n'est recommandée. L'information sur l'incident a été prise en compte dans l'évaluation de la souche BU1814 de *B. subtilis*.

3.1.4 Analyse des dangers

La base de données soumise à l'appui de l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra a été examinée du point de vue de la santé humaine et de la sécurité et a été jugée acceptable.

À la lumière des renseignements disponibles, le principe actif de qualité technique, en l'occurrence la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, présente une faible toxicité, n'est pas infectieux par voie orale ou pulmonaire et n'est pas pathogène ou infectieux par voie intraveineuse. Le principe actif de qualité technique présente également une faible toxicité par voie cutanée, est minimalement irritant pour l'œil et n'est pas un irritant cutané. L'AMLA est considéré comme un sensibilisant potentiel. Par conséquent, la mention de danger « SENSIBILISANT POTENTIEL » devra figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette du principe actif de qualité technique. La mention « Peut entraîner une sensibilisation » est également requise dans l'aire d'affichage secondaire de l'étiquette, sous la rubrique « MISES EN GARDE ».

Les préparations commerciales BAS 154 U ST et Velondis Plus présentent une faible toxicité par les voies orale et cutanée et par inhalation. BAS 154 U ST et Velondis Plus sont minimalement irritants pour la peau et les yeux. Comme les préparations contiennent un AMLA, la mention de danger « SENSIBILISANT POTENTIEL » devra figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette de chaque préparation commerciale. La mise en garde « Peut entraîner une sensibilisation. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. Éviter de respirer les brouillards. » est également requise dans l'aire d'affichage secondaire de chaque étiquette, sous la rubrique « MISES EN GARDE ».

Les préparations commerciales BAS 100 U ST et Velondis Flex présentent une faible toxicité par les voies orale et cutanée et par inhalation. BAS 100 U ST et Velondis Flex sont minimalement irritants pour la peau et les yeux. Comme les préparations contiennent un AMLA, la mention de danger « SENSIBILISANT POTENTIEL » devra figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette de chaque préparation commerciale.

L'énoncé « Peut entraîner une sensibilisation. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. Éviter de respirer les brouillards. » est également requis dans l'aire d'affichage secondaire de chaque étiquette, sous la rubrique « MISES EN GARDE ».

La préparation commerciale Velondis Extra présente une faible toxicité par les voies orale et cutanée et par inhalation. Velondis Extra est minimalement irritant pour la peau et les yeux. Comme la préparation contient un AMLA, la mention de danger « SENSIBILISANT POTENTIEL » devra figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette de la préparation commerciale. L'énoncé « Peut entraîner une sensibilisation. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. Éviter de respirer les brouillards. » doit également figurer dans l'aire d'affichage secondaire de chaque étiquette, sous la rubrique « MISES EN GARDE ».

Des études de toxicité subchronique et chronique de niveau supérieur n'étaient pas requises, car le principe actif de qualité technique ne présentait pas de toxicité aiguë par les voies orale, cutanée ou pulmonaire (instillation intratrachéale). De plus, il n'y avait aucune indication d'infectivité ou de pathogénicité chez les animaux étudiés avec l'AMLA au niveau I.

Dans la littérature scientifique disponible, rien n'indique que la souche BU1814 de *B. subtilis* puisse avoir des effets nocifs sur le système endocrinien des animaux. D'après le poids de la preuve établi à l'aide des données disponibles, aucun effet nocif sur le système endocrinien n'est prévu pour cet AMLA.

3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieux professionnel et résidentiel et à l'exposition occasionnelle

3.2.1 Exposition professionnelle et risques connexes

Lorsqu'elles respectent le mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, les personnes qui appliquent, mélangent, chargent ou manipulent le produit peuvent être exposées à celui-ci par voie cutanée et, dans une moindre mesure, par voie oculaire et par inhalation. Puisque la peau intacte agit comme une barrière naturelle contre une invasion de l'organisme par des microorganismes, il ne pourrait y avoir d'absorption cutanée que si la peau était coupée, si les microorganismes étaient munis de mécanismes leur permettant de pénétrer la peau ou de causer une infection cutanée, ou encore s'il y avait production de métabolites pouvant être absorbés par la peau. *Bacillus subtilis* n'a pas été fréquemment associé à des lésions cutanées, et rien n'indique qu'il pourrait pénétrer par la peau intacte des personnes en bonne santé. De plus, les épreuves de toxicité avec le principe actif de qualité technique, en l'occurrence la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, n'ont montré aucune toxicité ni aucune infectivité par les voies orale, pulmonaire, intraveineuse et cutanée, et il n'était pas un irritant cutané. Le principe actif de qualité technique était minimalement irritant pour les yeux. Les essais de toxicité menés avec les préparations

commerciales n'ont pas révélé de toxicité par voie orale ou cutanée ou par inhalation, et les préparations étaient minimalement irritantes pour la peau et les yeux. Cependant, l'ARLA tient pour acquis que tous les microorganismes contiennent des substances qui peuvent provoquer des réactions d'hypersensibilité, quels que soient les résultats des études de sensibilisation.

Des mesures d'atténuation des risques, comme le port d'un équipement de protection individuelle (gants résistant aux produits chimiques, vêtement à manches longues, pantalon long, appareil de protection respiratoire ou masque filtrant antibrouillard approuvé par le National Institute of Occupational Safety ans Health [NIOSH], chaussettes, chaussures), sont requises afin de réduire au minimum l'exposition et de protéger les préposés à la manipulation ainsi que ceux au mélange, au chargement et à l'application qui sont susceptibles d'être exposés.

Les mises en garde, les restrictions et les mesures d'atténuation des risques figurant sur les étiquettes sont adéquates pour protéger les utilisateurs de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, et aucun risque professionnel important n'est prévu avec ces produits.

3.2.2 Exposition en milieu résidentiel, exposition occasionnelle et risques connexes

Dans l'ensemble, l'ARLA ne s'attend pas à ce que l'exposition en milieu résidentiel et l'exposition occasionnelle présentent un risque préoccupant pour la santé en raison du faible profil de toxicité de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, du faible profil d'infectivité/pathogénicité de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, et des attentes quant au respect des étiquettes par les spécialistes de la lutte antiparasitaire lors de l'utilisation des préparations commerciales. En outre, *B. subtilis* est une espèce courante dans l'environnement, et l'utilisation des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour le traitement des semences ne devrait pas entraîner une augmentation soutenue de l'exposition des tierces personnes au-delà des niveaux naturels. Par conséquent, on ne s'attend pas à ce qu'il y ait des risques pour la santé des nourrissons et des enfants.

3.3 Évaluation de l'exposition par le régime alimentaire et des risques connexes

3.3.1 Aliments

Le profil d'emploi proposé (traitement des semences) ne devrait pas donner lieu à une exposition par le régime alimentaire et, par conséquent, ce risque ne devrait pas être préoccupant pour la population générale, y compris les nourrissons et les enfants, ni pour les animaux. Le produit ne sera pas appliqué sur les parties comestibles des cultures et, comme il est indiqué à la section 1.4, l'utilisation de la souche BU1814 de *B. subtilis* pour le traitement des semences ne devrait pas donner lieu à une croissance sur les parties comestibles des cultures. De plus, la souche BU1814 de *B. subtilis* n'a montré aucun signe de pathogénicité ou d'infectivité aiguë par voie orale, pulmonaire (intratrachéale) et injection intraveineuse dans les études de niveau I, ni aucune toxicité orale dans l'étude de toxicité aiguë. De plus, on n'a trouvé aucun métabolite d'intérêt toxicologique qui soit produit par cette souche.

3.3.2 Eau potable

Il ne devrait pas y avoir de risque pour la santé découlant de l'exposition à la souche BU1814 de *B. subtilis* par l'eau potable étant donné que l'exposition à la souche sera faible après son application pour le traitement des semences et qu'aucun effet nocif n'a été observé dans les études de toxicité aiguë par voie orale de niveau I. Les étiquettes de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Extra, Velondis Plus et Velondis Flex indiquent aux utilisateurs de ne pas contaminer les approvisionnements en eau d'irrigation ou en eau potable ni les habitats aquatiques lors du nettoyage de l'équipement ou de l'élimination des déchets. Enfin, le traitement municipal de l'eau potable devrait réduire le transfert de résidus dans l'eau potable.

3.3.3 Risques aigus et chroniques liés à l'exposition par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles

Il n'est généralement pas possible de calculer des doses aiguës de référence et des doses journalières admissibles qui permettraient de prévoir les effets aigus et à long terme des agents microbiens dans la population générale ou les sous-populations qui pourraient y être sensibles, en particulier les nourrissons et les enfants. La méthode de la dose unique (danger maximal) dans les essais sur les AMLA est suffisante pour réaliser une évaluation générale raisonnable des risques si aucun effet nocif important (c'est-à-dire aucun critère d'effet préoccupant en ce qui concerne la toxicité, l'infectivité et la pathogénicité associées à une exposition aiguë) n'est observé dans les essais de toxicité et d'infectivité aiguës. À la lumière des renseignements et des données disponibles sur le danger, l'ARLA conclut que la souche BU1814 de *B. subtilis* présente une faible toxicité par voie orale, n'est pas pathogène ni infectieuse pour les mammifères, et que les nourrissons et les enfants ne sont probablement pas plus sensibles aux AMLA que la population générale. Ainsi, il n'y a pas d'effets de seuil préoccupants et, de ce fait, il n'est pas nécessaire d'effectuer des études approfondies (doses multiples) ou d'appliquer des facteurs d'incertitude prenant en compte la variabilité intraspécifique et la variabilité interspécifique, ni des facteurs de sécurité ou des marges d'exposition. Aucune autre analyse plus poussée ne s'applique à cet AMLA pour ce qui est des profils de consommation chez les nourrissons et les enfants, d'une susceptibilité hors-norme aux effets de l'AMLA dans ces sous-populations, y compris les effets neurologiques associés aux expositions prénatales et postnatales, des effets cumulatifs de l'AMLA chez les nourrissons et les enfants ou de ceux d'autres microorganismes homologués ayant un mécanisme de toxicité commun. Par conséquent, l'ARLA n'a pas utilisé une méthode fondée sur la marge d'exposition (sécurité) pour évaluer les risques de la souche BU1814 de *B. subtilis* pour la santé humaine.

3.3.4 Exposition globale et risques connexes

D'après les résultats des essais de toxicité et d'infectivité et d'autres renseignements pertinents dans les dossiers de l'ARLA, il existe une certitude raisonnable que l'exposition globale aux résidus de la souche BU1814 de *B. subtilis* ne sera pas nocive pour la population générale au Canada, y compris les nourrissons et les enfants, lorsque les préparations commerciales sont utilisées selon le mode d'emploi figurant sur les étiquettes. Cela inclut toutes les expositions alimentaires prévues (aliments et eau potable) et toutes les autres expositions occasionnelles (par voie cutanée et par inhalation) pour lesquelles il existe des données fiables. Puisque l'utilisation

du produit est interdite sur des sites gazonnés, résidentiels ou récréatifs, l'exposition de la population générale par voie cutanée ou par inhalation sera très faible. De plus, la seule utilisation figurant sur les étiquettes sera le traitement des semences, et peu d'effets nocifs dus à l'exposition à d'autres souches de *B. subtilis* rencontrées dans l'environnement ont été signalés dans la littérature publique. Même s'il y avait une augmentation de l'exposition à la souche BU1814 de *B. subtilis* en raison de l'utilisation des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, il ne devrait pas y avoir d'augmentation du risque potentiel pour la santé humaine.

3.3.5 Limites maximales de résidus

Dans le cadre de l'évaluation préliminaire à l'homologation d'un pesticide, Santé Canada doit s'assurer que la consommation de la quantité maximale de résidus, soit la quantité qui devrait être présente sur les produits alimentaires lorsque le pesticide est utilisé conformément au mode d'emploi de l'étiquette, ne sera pas préoccupante pour la santé humaine. Une limite maximale de résidus (LMR) correspondant à la quantité maximale attendue est ensuite fixée en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, conformément à la disposition prévue par la *Loi sur les aliments et drogues* concernant la falsification des aliments. Santé Canada fixe les LMR en s'appuyant sur des données scientifiques afin de s'assurer que les aliments offerts au Canada sont salubres.

Au moment de la récolte, il ne devrait pas y avoir de résidus de la souche BU1814 de *B. subtilis* sur les cultures vivrières issues de semences traitées. Par conséquent, l'ARLA a utilisé une méthode fondée sur l'exposition afin de déterminer si une LMR doit être fixée pour ce microorganisme. L'ARLA a conclu que la détermination d'une LMR en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* n'est pas requise pour la souche BU1814 de *B. subtilis*.

3.4 Effets cumulatifs

La *Loi sur les produits antiparasitaires* exige que l'ARLA tienne compte de l'exposition cumulative aux pesticides présentant un mécanisme commun de toxicité. Dans son évaluation du mécanisme commun de toxicité, l'ARLA prend en compte à la fois la taxonomie des AMLA et la production de tout métabolite potentiellement toxique. Pour ce qui est de la présente évaluation, l'ARLA a déterminé que la souche BU1814 de *B. subtilis* partage un mécanisme commun de toxicité avec plusieurs autres bacilles, à savoir la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens*, la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, la souche QST 713 de *B. subtilis*, la souche GB03 de *B. subtilis* et la souche FZB24 de *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*. Les risques potentiels pour la santé dus à l'exposition cumulative à la souche BU1814 de *B. subtilis* et à ces autres AMLA homologués ne sont pas préoccupants lorsque ces AMLA sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur les étiquettes, compte tenu de leur faible toxicité et pathogénicité.

4.0 Effets sur l'environnement

4.1 Devenir et comportement dans l'environnement

Aucune étude n'a été présentée sur le devenir et le comportement dans l'environnement de la souche BU1814 de *B. subtilis*. Cependant, les données sur le devenir dans l'environnement (niveaux II et III) ne sont normalement pas requises au niveau I, et ne le sont que si des effets toxicologiques importants sur des organismes non ciblés sont constatés dans les essais de niveau I.

Les espèces du genre *Bacillus* sont des saprophytes largement répandus dans l'environnement naturel. Les habitats de la plupart des espèces sont les sols de toutes sortes (par exemple, sols tempérés, acides, neutres, alcalins), y compris les sols dans les colonnes d'eau et les dépôts de fond dans les eaux douces et marines. Leurs endospores sont très durables et survivent facilement dans le sol, les poussières et les aérosols. Si elles sont protégées du rayonnement solaire, les endospores peuvent survivre pendant de très longues périodes. Toutefois, la présence de spores dans un environnement donné ne signifie pas nécessairement que le microorganisme y est métaboliquement actif. La plupart des espèces du genre *Bacillus* sont des organismes hétérotrophes isolés à partir de milieux organiques complexes. Certaines espèces dégradent les biopolymères comme le cuir et les plumes, et il existe une certaine variabilité d'une espèce à l'autre. Il est donc postulé que ces espèces jouent un rôle important dans le cycle biologique du carbone et de l'azote. *Bacillus subtilis* est souvent isolé depuis la rhizosphère des plantes (par exemple, les graminées), et certains isolats peuvent se développer de manière endophyte sur les plantes.

L'utilisation des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour le traitement des semences devrait entraîner une légère augmentation du nombre de bactéries du genre *Bacillus* dans la rhizosphère des plantes traitées. Ces augmentations localisées du nombre de bactéries du genre *Bacillus* dans le sol ne devraient pas provoquer d'augmentation notable du nombre de ces bactéries dans l'environnement par rapport à ce que l'on observe à l'état naturel. De plus, au bout d'un certain temps, les populations de la souche BU1814 de *B. subtilis* dans la rhizosphère devraient revenir à la normale.

Les préparations commerciales ne sont pas destinées à être appliquées directement sur l'eau. Par conséquent, l'exposition des habitats aquatiques à ceux-ci devrait être faible et limitée au ruissellement après l'ensemencement des graines dans les champs. Bien que *B. subtilis* ne soit pas considéré comme une espèce aquatique et ne soit pas censé croître dans ce milieu, les endospores de ce microorganisme sont susceptibles de persister dans les sédiments. Le traitement des semences à l'aide des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra ne devrait pas provoquer d'augmentation notable du nombre de bactéries de cette espèce dans les sédiments par rapport à ce que l'on observe à l'état naturel. Comme nous l'avons mentionné précédemment, toute augmentation localisée des populations de la souche BU1814 de *B. subtilis* dans les habitats aquatiques devrait s'estomper au fil du temps, et les populations de ces bactéries devraient revenir à la normale.

4.2 Effets sur les espèces non ciblées

La démarche de l'ARLA relativement aux essais environnementaux des pesticides microbiens comporte quatre niveaux. Les études de niveau I sont des études de toxicité aiguë portant sur un maximum de sept grands groupes taxonomiques d'organismes non ciblés, qui sont exposés à une dose représentant un danger maximal ou à une concentration maximale de provocation de l'AMLA. La concentration maximale de provocation est normalement déterminée d'après la quantité de l'AMLA ou de sa toxine qui devrait être présente à la suite de l'application du produit à la dose maximale recommandée sur l'étiquette, laquelle quantité est ensuite multipliée par un facteur de sécurité donné. Les études de niveau II sont des études du devenir dans l'environnement (persistance et dispersion) ainsi que d'autres essais de toxicité aiguë de l'AMLA. Les études de niveau III consistent en des études de toxicité chronique, c'est-à-dire des études du cycle de vie, ainsi que des essais de toxicité définitive, par exemple pour déterminer la concentration létale à 50 % (CL_{50}) ou la dose létale à 50 % (DL_{50}). Les études de niveau IV sont des études expérimentales de terrain sur la toxicité et le devenir, et c'est grâce à elles que l'on détermine si les effets nocifs se matérialiseront dans les conditions réelles d'utilisation.

Le type d'évaluation des risques environnementaux à laquelle est soumis un AMLA varie selon le niveau établi lors des essais. Pour bon nombre d'AMLA, une étude de niveau I est suffisante pour l'évaluation des risques environnementaux. Les études de niveau I visent à représenter le pire scénario, dans lequel les conditions d'exposition dépassent de beaucoup les concentrations prévues dans l'environnement. L'absence d'effets nocifs à l'issue d'une étude de niveau I correspond à un risque minime pour le groupe d'organismes non ciblés. Cependant, une étude de niveau supérieur sera justifiée dans le cas où une étude de niveau I révèle des effets nocifs importants pour des organismes non ciblés. Ces études fournissent des renseignements additionnels qui permettent à l'ARLA d'évaluer de manière plus précise les risques pour l'environnement. En l'absence d'études du devenir dans l'environnement ou d'études de terrain adéquates, une évaluation préliminaire du niveau de risque peut être menée afin de déterminer la probabilité que l'AMLA pose un risque pour un groupe d'organismes non ciblés.

L'évaluation préliminaire des risques repose sur des méthodes simples, des scénarios d'exposition prudents (par exemple, l'application directe à la dose maximale d'application) et des critères d'effet toxicologique traduisant la sensibilité la plus élevée. On calcule un quotient de risque (QR) en divisant l'exposition estimée par une valeur de toxicité appropriée (QR = exposition/toxicité) et on compare ensuite le quotient de risque au niveau préoccupant (NP).

Si le QR issu de l'évaluation préliminaire est inférieur au NP, les risques sont jugés négligeables et aucune autre caractérisation des risques n'est nécessaire. S'il est égal ou supérieur au NP, il faut effectuer une évaluation plus approfondie des risques afin de mieux les caractériser. L'évaluation approfondie fait intervenir des scénarios d'exposition plus réalistes (devenir dans l'environnement ou résultats d'études de terrain). La précision de l'évaluation du risque peut être augmentée jusqu'à ce que le risque soit bien caractérisé ou qu'il ne soit plus possible d'apporter davantage de détails.

4.2.1 Effets sur les organismes terrestres

Deux études ont été soumises concernant les dangers de la souche BU1814 de *B. subtilis* pour les oiseaux et les abeilles domestiques. Des justifications scientifiques ont également été soumises à l'appui des demandes d'exemption d'essais pour les autres exigences de niveau I concernant les organismes terrestres. Les données présentées dans le cadre des essais de toxicité pour la santé humaine et animale ont été prises en compte afin d'évaluer le risque de nocivité pour les mammifères sauvages.

Dans l'étude par voie orale sur les oiseaux, la toxicité aiguë par voie orale du principe actif de qualité technique ($\geq 4{,}85 \times 10^{11}$ spores de la souche BU1814 de *B. subtilis*/g) pour des colins de Virginie (*Colinus virginianus*) âgés de 16 jours a été évaluée sur une période de 30 jours. Une suspension du principe actif de qualité technique dans de l'eau désionisée (environ 40 % p/v) a été administrée aux oiseaux (30) par gavage oral à une dose de 5 mL/kg p.c./j (équivalant à $9{,}4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j) pendant cinq jours consécutifs, puis les observations ont été faites sur 30 jours en tout. On n'a observé aucun effet lié au traitement sur la mortalité, la prise pondérale et le comportement, ni aucun résultat d'autopsie lié au traitement. On a déterminé que la dose efficace à 50 % (DE_{50}) et la dose sans effet observé (DSEO) sur 30 jours étaient supérieures à $9{,}4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j et à $9{,}4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j, respectivement.

Dans l'étude sur les abeilles domestiques (*Apis mellifera*; 50 abeilles/traitement), celles-ci ont été exposées à la préparation commerciale BAS 100 AF U (contenant $4{,}13 \times 10^9$ spores viables de la souche BU1814 de *B. subtilis*/mL), à une concentration nominale de 4×10^7 UFC/mL, par le régime alimentaire et par contact. Cette étude a été menée sept fois en tout, et elle prenait fin lorsque le seuil de validité, à savoir un taux de mortalité de 20 % chez les témoins, était dépassé. À la fin de l'étude, la mortalité dans les groupes témoins était inférieure à 50 %. Pendant les essais, dont la durée s'échelonnait sur 5 à 17 jours, BAS 100 AF U n'était associé à aucun cas important d'infectivité ou de toxicité par contact ou par voie orale. Le temps létal médian (TL_{50}) était supérieur à 8 jours pour l'essai par voie orale et à 9 jours pour l'essai par contact (voir le tableau ci-dessous).

Numéro de l'essai	Voie orale		Contact	
	TL_{50} (jours)	DL_{50} (UFC/mL)	TL_{50} (jours)	DL_{50} (UFC/mL)
1	> 7	$> 4{,}3 \times 10^7$	> 7	$> 4{,}3 \times 10^7$
2	> 10	$> 4{,}0 \times 10^7$	> 9	$> 4{,}0 \times 10^7$
3	> 6	$> 6{,}3 \times 10^8$	> 5	$> 6{,}3 \times 10^8$
4	> 9	$> 9{,}8 \times 10^8$	> 17	$> 9{,}8 \times 10^8$
5	> 9	$> 3{,}8 \times 10^7$	> 9	$> 3{,}8 \times 10^7$
6	> 14	$> 3{,}6 \times 10^7$	> 14	$> 3{,}6 \times 10^7$
7	> 7	$> 3{,}9 \times 10^7$	> 7	$> 3{,}9 \times 10^7$

Les justifications scientifiques fournies par le demandeur étaient fondées sur l'absence d'effets nocifs notée dans les études de toxicologie environnementale et dans les études sur les mammifères décrites à la section 3.1.1, sur un long historique d'exposition à *B. subtilis*

naturellement présent dans l'environnement et sur le faible potentiel d'exposition à la suite de l'utilisation de la souche BU1814 pour le traitement des semences. *Bacillus subtilis* est présent naturellement dans les sols et il est associé avec des plantes et des matières organiques/inorganiques. Cette espèce est omniprésente dans l'environnement. Alors que certaines espèces du genre *Bacillus* sont des agents pathogènes opportunistes ou obligatoires des animaux, dont les mammifères (*Bacillus anthracis*) et les insectes (par exemple, *Bacillus thuringiensis*), *B. subtilis* n'est généralement pas considéré comme un agent pathogène. De plus, l'utilisation de la souche BU1814 ne devrait entraîner qu'une augmentation minime du nombre de bactéries du genre *Bacillus* dans la rhizosphère des plantes traitées (section 4.1). Ces augmentations localisées et minimes du nombre de bactéries du genre *Bacillus* dans le sol ne devraient pas provoquer d'augmentation notable du nombre de ces bactéries dans l'environnement par rapport à ce que l'on observe à l'état naturel. De plus, au bout d'un certain temps, les populations de la souche BU1814 de *B. subtilis* dans la rhizosphère devraient revenir à la normale.

Une recherche dans PubMed à l'aide des mots-clés « *Bacillus subtilis* pathogen » n'a permis de trouver que très peu de cas de pathogénicité. Les cas de pathogénicité qui ont été trouvés consistaient principalement en des infections chez des personnes dont le système immunitaire était potentiellement déficient. La plupart des cas trouvés dans la littérature scientifique portaient sur : i) la capacité de *B. subtilis* de favoriser la croissance ou d'induire une résistance systémique dans les cultures hôtes; ii) la lutte biologique contre divers champignons phytopathogènes; et iii) l'utilisation de *B. subtilis* comme probiotique dans les aliments pour animaux (par exemple, chez les poulets).

D'après tous les renseignements disponibles sur les propriétés biologiques de *B. subtilis*, l'absence d'effets documentés sur les organismes terrestres non ciblés et l'exposition environnementale minimale prévue à la suite de l'utilisation de la souche BU1814 pour le traitement des semences, il existe une certitude raisonnable qu'aucun dommage ne sera causé aux oiseaux, aux mammifères terrestres, aux invertébrés arthropodes terrestres non ciblés, aux invertébrés non arthropodes et aux plantes terrestres à la suite des utilisations proposées des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour le traitement des semences de maïs (tous les types), de soja ou de blé. De plus, on ne s'attend pas à ce que les produits de formulation contribuent à la toxicité potentielle des préparations commerciales.

4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques

Aucune étude n'a été soumise sur les dangers de la souche BU1814 pour les organismes aquatiques non ciblés. Des justifications scientifiques ont plutôt été soumises pour demander une exemption concernant les exigences des essais de niveau I pour les organismes aquatiques. Comme il est décrit dans les justifications présentées pour les organismes terrestres non ciblés, *B. subtilis* est un microorganisme naturellement omniprésent dans les sols et existe en association avec les plantes et les matières organiques/inorganiques. Par conséquent, ces microorganismes migrent naturellement dans les habitats aquatiques par ruissellement et, malgré cette exposition naturelle, *B. subtilis* n'est pas considéré comme un agent pathogène pour les espèces aquatiques. Au contraire, *B. subtilis* est souvent étudié en vue de son utilisation comme probiotique dans

l'alimentation des poissons et des crevettes. Dans les études scientifiques publiées fournies par le demandeur, aucun effet nocif n'a été signalé chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*), le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*), la dorade royale (*Sparus aurata*), la crevette tigrée (*Penaeus monodon*) ou la crevette géante d'eau douce (*Macrobrachium rosenbergii*). De plus, l'utilisation de la souche BU1814 ne devrait pas provoquer d'augmentation notable du nombre de bactéries de cette espèce dans l'environnement par rapport à ce que l'on observe à l'état naturel (voir la section 4.1). Par conséquent, le nombre de bactéries de cette espèce dans les sédiments ne devrait pas dépasser la normale.

La recherche effectuée dans PubMed à l'aide des mots-clés « *Bacillus subtilis* pathogen » n'a permis de trouver aucun cas de pathogénicité pour les organismes aquatiques non ciblés. Comme il est mentionné à la section 4.2.1, la plupart des cas trouvés dans la littérature scientifique portaient sur : i) la capacité de *B. subtilis* de favoriser la croissance ou d'induire une résistance systémique dans les cultures hôtes; ii) la lutte biologique contre divers champignons phytopathogènes; et iii) l'utilisation de *B. subtilis* comme probiotique dans les aliments pour animaux, notamment dans les aliments destinés aux poissons.

À la lumière des renseignements disponibles au sujet des effets de *B. subtilis* sur les organismes aquatiques non ciblés, il existe une certitude raisonnable qu'aucun dommage ne sera causé aux poissons, aux invertébrés aquatiques arthropodes et non arthropodes, et aux plantes aquatiques à la suite des utilisations proposées des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour le traitement des semences de maïs (tous les types), de soja ou de blé. De plus, les produits de formulation ne devraient pas contribuer à la toxicité potentielle des préparations commerciales. Par mesure de précaution générale, aucune pulvérisation aérienne n'est permise. L'étiquette devra également indiquer aux préposés à la manipulation de veiller à ne pas contaminer les eaux de surface lorsqu'ils éliminent l'eau utilisée pour laver l'équipement.

4.3 Déclarations d'incident concernant l'environnement

L'ARLA a effectué un examen des déclarations d'incident afin de trouver d'éventuels incidents ayant mis en cause des souches homologuées de *B. subtilis* et de *B. amyloliquefaciens*. En date du 4 mai 2018, aucune déclaration d'incident concernant l'environnement n'avait été transmise à l'ARLA. Aucune mesure additionnelle d'atténuation des risques n'est recommandée pour la souche BU1814 de *B. subtilis*.

5.0 Valeur

Les données d'efficacité tirées de 32 essais ont été fournies à l'appui de 19 allégations concernant le maïs, le soja et le blé. La plupart des allégations concernant l'utilisation étaient étayées. Il a été démontré que les produits contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* ont une valeur lorsqu'ils sont utilisés contre les maladies des cultures indiquées sur l'étiquette des produits. Les allégations étayées sont présentées au tableau 3 de l'annexe I.

Il existe plusieurs produits de remplacement classiques pour toutes les combinaisons cultures-agents pathogènes. En ce qui concerne l'ensemble des allégations pour le blé et les allégations pour le soja visant les espèces du genre *Pythium*, ces produits constitueront la première solution non classique et pourraient être utiles à l'industrie de la culture biologique. En outre, le risque d'acquisition d'une résistance au principe actif est faible avec ces types de produits.

6.0 Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires

6.1 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

La Politique de gestion des substances toxiques est une politique du gouvernement fédéral visant à offrir des orientations sur la gestion des substances préoccupantes qui sont rejetées dans l'environnement. Elle prévoit la quasi-élimination des substances de la voie 1, substances qui répondent aux quatre critères précisés dans la politique, c'est-à-dire qu'elles sont persistantes (dans l'air, le sol, l'eau ou les sédiments), bioaccumulables, principalement anthropiques et toxiques, au sens de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*.

La souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et les préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra ont été évaluées conformément à directive d'homologation DIR99-03[8] de l'ARLA.

- La souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique ne répond pas aux critères de la voie 1 puisque son principe actif est un organisme biologique et que les organismes biologiques ne sont pas assujettis aux critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxiques des produits antiparasitaires chimiques.

- Les préparations commerciales ne contiennent pas non plus de produits de formulation, de contaminants ou d'impuretés qui répondraient aux critères de la voie 1.

6.2 Produits de formulation et contaminants préoccupants pour la santé

Dans le cadre de l'évaluation, les contaminants présents dans le produit de qualité technique et les produits de formulation ainsi que les contaminants présents dans les préparations commerciales sont recherchés dans la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* tenue à jour dans la *Gazette du Canada*[9]. Cette liste, utilisée conformément à

---

8 DIR99-03, *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en œuvre de la Politique de gestion des substances toxiques.*

9 *Gazette du Canada*, Partie II, volume 139, numéro 24, TR/2005-114 (2005-11-30), pages 2641 à 2643 : *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*, et arrêté modifiant cette liste dans la *Gazette du Canada*, Partie II, volume 142, numéro 13, TR/2008-67 (2008-06-25), pages 1611 à 1613. *Partie 1 – Formulants qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement, Partie 2 – Formulants allergènes reconnus pour provoquer des réactions de type anaphylactique et qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement et Partie 3 – Contaminants qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement.*

l'Avis d'intention NOI2005-01[10] de l'ARLA, est fondée sur les politiques et la réglementation en vigueur, notamment les Directives d'homologation DIR99-03 et DIR2006-02[11], et tient compte du *Règlement sur les substances appauvrissant la couche d'ozone* (1998) pris en application de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (substances désignées par le Protocole de Montréal). L'ARLA a tiré les conclusions suivantes :

- Le principe actif de qualité technique, en l'occurrence la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, ne contient aucun des produits de formulation préoccupants pour la santé ou pour l'environnement mentionnés dans la *Gazette du Canada*, Partie II, volume 139, numéro 24, pages 2641 à 2643 : *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.

- Les préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra ne contiennent aucun des produits de formulation préoccupants pour la santé ou pour l'environnement mentionnés dans la *Gazette du Canada*, Partie II, volume 139, numéro 24, pages 2641 à 2643 : *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.

L'utilisation de produits de formulation dans les produits antiparasitaires homologués est évaluée de manière continue dans le cadre des initiatives de l'ARLA en matière de produits de formulation et conformément à la directive d'homologation DIR2006-02.

7.0 Résumé

7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'il est fabriqué

Les données de caractérisation pour la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et les préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra ont été jugées adéquates pour l'évaluation des risques potentiels pour la santé humaine et l'environnement. Le principe actif de qualité technique a été caractérisé, et les spécifications du principe actif de qualité technique et des préparations commerciales ont été étayées par l'analyse d'un nombre suffisant de lots. Tous les lots de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique doivent être conformes aux limites fixées dans le document de l'Organisation de coopération et de développement économiques sur les contaminants microbiens pour les produits antiparasitaires microbiens [ENV/JM/MONO(2011)43].

Au lieu de données, les énoncés par défaut au sujet du stockage figureront sur l'étiquette de la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique et sur l'étiquette des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra.

---

10 NOI2005-01, *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement en vertu de la nouvelle* Loi sur les produits antiparasitaires.

11 DIR2006-02, *Politique sur les produits de formulation et document d'orientation sur sa mise en œuvre.*

Le principe actif de qualité technique et les préparations commerciales doivent être conservés dans des contenants scellés à ≤ 4 °C pendant 6 mois au maximum.

7.2 Santé et sécurité humaines

Les études de toxicité et d'infectivité aiguës et les autres renseignements pertinents soumis à l'appui de l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra ont été jugées acceptables. À la lumière des renseignements disponibles, le principe actif de qualité technique, en l'occurrence la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique, présentait une faible toxicité par les voies orale, pulmonaire et cutanée et n'était pas pathogène ni infectieux par les voies orale, pulmonaire ou intraveineuse. Le principe actif de qualité technique n'était pas irritant pour la peau et était minimalement irritant pour les yeux. Cet AMLA est par ailleurs considéré comme un sensibilisant potentiel. Chacune des préparations commerciales, BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, présentait une faible toxicité par les voies orale et cutanée et par inhalation et était minimalement irritante pour la peau et les yeux. Les mots indicateurs « SENSIBILISANT POTENTIEL » doivent figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette du principe actif de qualité technique et des préparations commerciales, tout comme les mises en garde « Peut causer une sensibilisation », « Éviter le contact avec la peau et les vêtements », « Éviter de respirer les brouillards ».

Lorsqu'elles respectent le mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, les personnes qui appliquent, mélangent, chargent ou manipulent le produit peuvent être exposées à celui-ci par voie cutanée et, dans une moindre mesure, par voie oculaire et par inhalation. Une sensibilité respiratoire et cutanée pourrait éventuellement se développer à la suite d'expositions répétées au produit, car tous les microorganismes, y compris cet AMLA, contiennent des substances qui sont des sensibilisants potentiels. Par conséquent, les utilisateurs qui manipulent ou appliquent les préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra doivent porter des gants résistant aux produits chimiques, un vêtement à manches longues, un pantalon long, un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire approuvé par le NIOSH, des chaussettes et des chaussures.

Il ne devrait pas y avoir de risque pour la santé de la population générale, y compris les nourrissons et les enfants, à la suite d'une exposition occasionnelle ou chronique par le régime alimentaire, car ces produits sont utilisés pour le traitement de semences dans des installations commerciales. L'établissement d'une LMR en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* n'est pas requis pour la souche BU1814 de *B. subtilis*.

L'utilisation de la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* comme principe coactif pour le traitement des semences a déjà été évaluée et approuvée par l'ARLA, sous le nom de souche MBI 600 de *Bacillus subtilis* (voir le Projet de décision d'homologation PRD2009-17 pour plus de renseignements sur cet examen).

7.3 Risques pour l'environnement

Les essais réalisés sur des organismes non ciblés, les justifications techniques et les articles scientifiques présentés pour appuyer l'homologation de la souche BU1814 de *B. subtilis* et des préparations commerciales connexes (BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra) ont été jugés acceptables. L'utilisation de BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra pour le traitement des semences ne devrait pas poser de risque pour les organismes non ciblés si l'on respecte le mode d'emploi figurant sur les étiquettes.

Par mesure de précaution, l'étiquette des produits interdira la pulvérisation aérienne et indiquera aux préposés à la manipulation de veiller à ne pas contaminer les eaux de surface lorsqu'ils éliminent l'eau utilisée pour laver l'équipement.

L'utilisation de la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* comme principe coactif pour le traitement des semences a déjà été évaluée et approuvée par l'ARLA, sous le nom de souche MBI 600 de *Bacillus subtilis* (voir le Projet de décision d'homologation PRD2009-17 pour plus de renseignements sur cet examen).

7.4 Valeur

La souche BU1814 de *B. subtilis* est un nouveau principe actif destiné à être utilisé pour le traitement des semences dans les préparations commerciales BAS 100 U ST, Velondis Extra, BAS 154 U ST, Velondis Flex et Velondis Plus. Il a été démontré que ces préparations commerciales permettent de réprimer totalement ou partiellement les agents pathogènes du sol mentionnés sur les étiquettes qui provoquent certaines maladies des semences et des semis dans le maïs, le soja et le blé.

Ces produits offriront des solutions non classiques permettant de remplacer les produits classiques et pourraient intéresser les producteurs biologiques. En ce qui concerne l'ensemble des allégations pour le blé et les allégations pour le soja visant les espèces du genre *Pythium*, ces produits constitueront la première solution non classique et pourraient être utiles à l'industrie de la culture biologique.

La souche BU1814 de *B. subtilis* représente un nouveau mode d'action pour les maladies des semences et des semis du blé causées par *Fusarium*, *Rhizoctonia solani* et *Cochliobolus sativus*, et pour les maladies du soja causées par *Pythium ultimum*.

8.0 Projet de décision d'homologation

En vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* et de ses règlements d'application, l'ARLA de Santé Canada propose l'homologation complète à des fins de vente et d'utilisation de la souche BU1814 de *Bacillus subtilis* de qualité technique et des préparations commerciales BAS 154 U ST, BAS 100 U ST, Velondis Plus, Velondis Flex et Velondis Extra, contenant comme principe actif de qualité technique la souche BU1814 de *B. subtilis*, pour le traitement des semences de maïs, de soja et de blé afin de réprimer totalement ou partiellement les agents pathogènes du sol qui causent des maladies des semences et des semis.

Après l'évaluation des renseignements scientifiques à sa disposition, l'ARLA juge que, dans les conditions d'utilisation approuvées, les risques pour la santé et l'environnement liés à ces produits antiparasitaires et la valeur de ces produits sont acceptables.

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
ATCC	American Type Culture Collection
CL_{50}	concentration létale à 50 %
cm	centimètre
CIM	cote d'irritation maximale
CMM	cote moyenne maximale
DE_{50}	dose efficace à 50 %
DL_{50}	dose létale à 50 %
DSEO	dose sans effet observé
g	gramme
kg	kilogramme
L	litre
LMR	limite maximale de résidus
mg	milligramme
mL	millilitre
NP	niveau préoccupant
p.c.	poids corporel
QR	quotient de risque
TL_{50}	temps létal médian
UFC	unités formatrices de colonies

Annexe I Tableaux et figures

Tableau 1.1 Profil de toxicité de la souche BU1814 de Bacillus subtilis de qualité technique

Type d'étude, animal et numéro de document de l'ARLA	Résultats de l'étude
Étude de toxicité et d'infectivité aiguë par voie orale, 21 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748260	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes sur le plan de la prise pondérale. Le microorganisme à l'étude n'a pas été récupéré dans le sang ou les tissus et était éliminé du contenu du cæcum au jour 7. Le principe actif de qualité technique présentait une faible toxicité et n'était pas infectieux lorsqu'il était instillé à une $DL_{50} > 2,5 \times 10^8$ UFC/rat.
Étude de toxicité et d'infectivité aiguë par voie pulmonaire, 21 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748262	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La substance à l'étude avait été éliminée de tous les tissus et organes au jour 14. Un profil d'élimination a été établi pour le contenu du cæcum au jour 21. Le principe actif de qualité technique n'était ni infectieux ni pathogène par instillation intratrachéale à $1,4 \times 10^8$ UFC/rat.
Étude d'infectivité aiguë par injection intraveineuse, 42 jours[2] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748264	Il n'y a eu aucune mortalité et tous les animaux semblaient normaux au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable lors de l'examen macroscopique à l'autopsie. Au jour 42, la prise pondérale chez les femelles traitées avait diminué de façon considérable par rapport aux femelles non traitées. Des différences statistiquement significatives dans le poids relatif des ganglions lymphatiques mésentériques, du foie et des reins des femelles dans le groupe ayant reçu la substance à l'étude ont également été constatées par rapport au poids des organes des femelles dans le groupe ayant reçu la substance à l'étude inactivée. Le poids relatif des reins chez les mâles et les femelles présentait également une augmentation statistiquement significative par rapport à celui des groupes ayant reçu la substance inactive. La substance à l'étude a été éliminée du sang, du contenu du cæcum, du cerveau, des ganglions lymphatiques mésentériques, des poumons et des reins au jour 28 ou avant. Un profil d'élimination de la substance à l'étude a été établi pour le foie et la rate au jour 42. Le principe actif de qualité technique n'était pas pathogène lorsqu'il était injecté à $3,3 \times 10^7$ UFC/rat.
Étude de toxicité aiguë par voie	Il n'y a eu aucune mortalité.

Type d'étude, animal et numéro de document de l'ARLA	Résultats de l'étude
orale, 14 jours[3] Rats Sprague-Dawley, femelles Numéro de l'ARLA 2748259	Il n'y a eu aucun signe clinique de toxicité et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable à l'autopsie. La DL_{50} aiguë par voie orale était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les rates.
Étude de toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours[3] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748265	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique de toxicité ou d'irritation et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable à l'autopsie. La DL_{50} aiguë par voie cutanée était supérieure à 5 050 mg/kg p.c. chez les rats mâles et femelles.
Étude d'irritation cutanée, 72 heures[3] Lapins néo-zélandais blancs Numéro de l'ARLA 2748267	Aucun érythème ni œdème n'a été observé lors de l'étude. La CIM calculée était de 0/8. La CMM était de 0/8 à 24, 48 et 72 heures. Le principe actif de qualité technique n'était pas irritant pour la peau.
Étude d'irritation oculaire, 7 jours[3] Lapins néo-zélandais blancs Numéro de l'ARLA 2748268	Une rougeur et un écoulement étaient visibles dans les yeux des trois animaux au temps d'observation de 1 heure. L'irritation avait disparu après 24 heures. La CIM calculée était de 6,0/110 à 1 heure. La CMM était de 0/110 à 24, 48 et 72 heures. Le principe actif de qualité technique était minimalement irritant pour les yeux.

[1] La substance à l'étude était BAS 100 U contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $1{,}37 \times 10^{11}$ UFC/g, ce qui était jugé équivalent sur le plan toxicologique à la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique.
[2] La substance à l'étude était *B. subtilis* UD1022 BU1814 contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $3{,}3 \times 10^{10}$ UFC/mL, ce qui était jugé équivalent sur le plan toxicologique à la souche BU1814 de *B. subtilis* de qualité technique.
[3] La substance à l'étude était *B. subtilis* UD1022 BU1814. On n'a pas fourni de certificat d'analyse.

Tableau 1.2 Profil de toxicité de BAS 154 U ST et Velondis Plus

Type d'étude, animal et numéro de document de l'ARLA	Résultats de l'étude
Étude de toxicité aiguë par voie orale, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley, femelles Numéro de l'ARLA 2748116	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La DL_{50} aiguë par voie orale était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les femelles.
Étude de toxicité aiguë par inhalation, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748117	Il n'y a eu aucune mortalité. Tous les animaux présentaient une respiration irrégulière après l'exposition, mais avaient récupéré au jour 1. Tous les animaux semblaient normaux jusqu'à la fin de l'étude. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La CL_{50} aiguë par inhalation était supérieure à 2,13 mg/L chez les mâles et les femelles.
Étude de toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748118	Il n'y a eu aucune mortalité. Un très léger érythème a été observé chez un mâle au jour 1. Tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable à l'autopsie. La DL_{50} aiguë par voie cutanée était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les rats mâles et femelles.
Étude d'irritation cutanée, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs Numéro de l'ARLA 2748119	Un très léger érythème a été observé chez un animal 30 à 60 minutes après l'exposition. L'irritation avait disparu après 24 heures. La CIM calculée était de 0,33/8 à 1 heure. La CMM était de 0/8. BAS 154 U ST était minimalement irritant pour la peau.
Étude d'irritation oculaire, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs, femelles Numéro de l'ARLA 2748120	Une heure après l'instillation, deux des yeux traités présentaient une rougeur conjonctivale (niveau 1) et un œil traité présentait un chémosis (niveau 1). Un écoulement conjonctival (niveaux 1et 2) a été observé dans tous les yeux traités. L'irritation avait disparu après 24 heures. La CIM calculée était de 4,67/110 à 1 heure. La CMM était de 0/110 à 24, 48 et 72 heures. BAS 154 U ST était minimalement irritant pour les yeux.

[1] La substance à l'étude était BAS 154 01 U (souche BU1814 de *B. subtilis* à $3,33 \times 10^9$ UFC/mL et souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,62 \times 10^{10}$ UFC/mL). La substance à l'étude est jugée équivalente sur le plan toxicologique à BAS 154 U ST.

Tableau 1.3 Profil de toxicité de BAS 100 U ST et Velondis Flex

Type d'étude, animal et numéro de document de l'ARLA	Résultats de l'étude
Étude de toxicité aiguë par voie orale, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley, femelles Numéro de l'ARLA 2748116	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La DL_{50} aiguë par voie orale était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les femelles.
Étude de toxicité aiguë par inhalation, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748175	Il n'y a eu aucune mortalité. Tous les mâles et quatre femelles présentaient une respiration irrégulière après l'exposition, mais avaient récupéré au jour 1. Tous les animaux semblaient normaux jusqu'à la fin de l'étude. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La CL_{50} aiguë par inhalation était supérieure à 2,19 mg/L chez les mâles et les femelles.
Étude de toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748177	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a observé aucun signe clinique ni comportement anormal, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable à l'autopsie. La DL_{50} aiguë par voie cutanée était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les rats mâles et femelles.
Étude d'irritation cutanée, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs Numéro de l'ARLA 2748179	Un érythème et un œdème très légers ont été observés chez un animal au temps d'observation de 24 heures. L'irritation avait disparu au temps d'observation de 48 heures. La CIM calculée était de 0,67/8 à 24 heures. La CMM était de 0,22/8 à 24, 48 et 72 heures. BAS 100 U ST était minimalement irritant pour la peau.
Étude d'irritation oculaire, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs, femelles Numéro de l'ARLA 2748181	Une heure après l'instillation de la substance à l'étude, un œil présentait une rougeur conjonctivale (niveau 1) et un autre œil présentait un chémosis (niveau 1), avec un écoulement conjonctival (niveaux 1 et 2). Tous les signes d'irritation oculaire étaient disparus au bout de 24 heures. La CIM calculée était de 2,07/110 à 1 heure. La CMM était de 0/110 à 24, 48 et 72 heures. BAS 100 U ST était minimalement irritant pour les yeux.

[1] La substance à l'étude était BAS 100 02 U contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $4,03 \times 10^9$ UFC/mL. La substance à l'étude est jugée équivalente sur le plan toxicologique à BAS 100 U ST.

Tableau 1.4 Profil de toxicité de Velondis Extra

Type d'étude, animal et numéro de document de l'ARLA	Résultats de l'étude
Étude de toxicité aiguë par voie orale, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley, femelles Numéro de l'ARLA 2748002	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a constaté aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à l'autopsie, ni aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la prise pondérale. La DL_{50} aiguë par voie orale était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les femelles.
Étude de toxicité aiguë par inhalation, 14 jours[1] Rats Charles River Wistar Numéro de l'ARLA 2748003	Il n'y a eu aucune mortalité. Quatre mâles et trois femelles présentaient une respiration irrégulière, mais s'étaient rétablis au jour 1. Tous les animaux semblaient actifs et en bonne santé jusqu'à la fin de l'étude. Tous les animaux avaient pris du poids au jour 3. La CL_{50} aiguë par inhalation était supérieure à 2,32 mg/L chez les mâles et les femelles.
Étude de toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours[1] Rats Sprague-Dawley Numéro de l'ARLA 2748004	Il n'y a eu aucune mortalité. On n'a observé aucun signe clinique ni comportement anormal, et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. Il n'y a eu aucune anomalie observable à l'autopsie. La CL_{50} aiguë par voie cutanée était supérieure à 5 000 mg/kg p.c. chez les rats mâles et femelles.
Étude d'irritation cutanée, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs Numéro de l'ARLA 2748005	Un érythème et un œdème très légers ont été observés sur un site traité au temps d'observation de 24 heures. L'irritation avait disparu au temps d'observation de 48 heures. La CIM calculée était de 0,67/8 à 24 heures. La CMM était de 0,22/8 à 24, 48 et 72 heures. Velondis Extra est minimalement irritant pour la peau.
Étude d'irritation oculaire, 72 heures[1] Lapins néo-zélandais blancs, femelles Numéro de l'ARLA 2748006	Une heure après l'instillation de la substance à l'étude, les trois yeux traités présentaient une rougeur conjonctivale (niveau 1) et un chémosis conjonctival (niveau 1), et deux yeux traités présentaient un écoulement (niveau 1). Tous les signes d'irritation oculaire avaient disparu après 24 heures. La CIM calculée était de 5,33/110 à 1 heure. La CMM était de 0/110 à 24, 48 et 72 heures. Velondis Extra était minimalement irritant pour les yeux.

[1] La substance à l'étude était BAS 154 00 U contenant la souche BU1814 de *B. subtilis* à $1,33 \times 10^9$ UFC/mL et la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens* à $3,77 \times 10^{10}$ UFC/mL. La substance à l'étude est jugée équivalente sur le plan toxicologique à Velondis Extra.

Tableau 2 Toxicité de la souche BU1814 de Bacillus subtilis pour les espèces non ciblées

Organisme	Exposition	Protocole	Effets importants, commentaires	Référence
Organismes terrestres				
		Vertébrés		
Colin de Virginie (*Colinus virginianus*) Âgé de 16 jours	30 jours – voie orale Principe actif de qualité technique : $9,4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j pendant 5 jours consécutifs (mesuré)	Aucun effet lié au traitement n'a été observé dans le groupe d'essai. La DE_{50} était > $9,4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j et la DSEO était de $9,4 \times 10^{10}$ UFC/kg p.c./j **FAIBLE TOXICITÉ NON PATHOGÈNE**		ARLA 2748270
		Invertébrés		
Arthropodes				
Abeille domestique (*Apis mellifera*)	Jusqu'à 17 jours – par contact et le régime alimentaire Les essais ont été réalisés 7 fois avec BAS 100 AF U à une concentration nominale de 4×10^7 UFC/mL	La mortalité dans le groupe d'essai était inférieure à 50 % à la fin de l'étude. Pendant les essais, aucune infectivité ni aucune toxicité importante pour les abeilles domestiques n'ont été observées à la suite d'une exposition par contact ou par voie orale. **FAIBLE TOXICITÉ NON PATHOGÈNE**		ARLA 2748283

Tableau 3 Liste des utilisations étayées

Produit	Culture	Allégations étayées sur les étiquettes
BAS 100 U ST	Maïs	Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Fusarium graminearum* à 2,5 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Rhizoctonia solani* à 2,5 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Rhizoctonia solani* à 2,5 mL/100 kg semence
	Soja	Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence

Produit	Culture	Allégations étayées sur les étiquettes
		Répression de la fonte des semis causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle du pourridié des racines de semis causé par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
BAS 100 U ST et Velondis Flex	Blé	Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Cochliobolus sativus* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Cochliobolus sativus* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Rhizoctonia solani* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression de la fonte des semis en postlevée causée par *Rhizoctonia solani* à 21,1 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis causée par *Rhizoctonia solani* à 21,1 mL/100 kg semence
BAS 154 U ST et Velondis Plus	Soja	Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis causée par *Pythium ultimum* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression de la fonte des semis causée par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
		Répression partielle du pourridié des racines de semis causé par *Rhizoctonia solani* à 4,4 mL/100 kg semence
Velondis Extra	Maïs	Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Fusarium* spp. à 20 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Fusarium* spp. à 20 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la pourriture des semences ou de la fonte des semis en prélevée causée par *Rhizoctonia solani* à 20 mL/100 kg semence
		Répression partielle de la fonte des semis en postlevée causée par *Rhizoctonia solani* à 20 mL/100 kg semence

Références

A. Liste des études et des renseignements présentés par le titulaire

Numéro de document de l'ARLA	Références
	1.0 Caractérisation et analyse des produits
2748252	2017, Product Characterization Table Bacillus subtilis BU1814 Technical Grade, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6
2748253	2016, *Bacillus subtilis* BU1814 Technical Grade Group A - Product Identity, Composition and Analysis, DACO: M2.10.1, M2.10.3, M2.7.1, M2.7.2, M2.8, M2.9.1, M2.9.2, M2.9.3 CBI
2748254	2016, 5-batch Analysis - Enumeration of Active Ingredient and Microbial Impurities Profile According to SANCO/12116/2012 on BAS 100 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.10.2, M2.9.2
2748255	2016, Stability to Elevated Temperatures According to OPPTS 830.6313 on BAS 100 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.11
2748256	2016, Chemical Physical Characterization on Test Item BAS 100 U TGAI (Including Amendment No. 1), DACO: M2.12
2816993	2014, Macromolecule analysis in axenic cultures of the strain BAS100 ABU, DACO: M2.7.2 CBI
2821667	2015, Draft Genome Sequence of a Natural Root Isolate, *Bacillus subtilis* UD1022, a Potential Plant Growth-Promoting Biocontrol Agent, DACO: M2.7.1
2748111	2017, Product Characterization Table BAS 154 U ST, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5
2748112	2016, Chemical Physical Characterization on Test Item BAS 154 01 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.12
2748113	2016, Velondis(TM) Plus Biofungicide Group A - Product Identity, Composition and Analysis, DACO: M2.10.1, M2.10.2, M2.10.3, M2.11, M2.8, M2.9.1, M2.9.2, M2.9.3 CBI
2748114	2016, 5-batch Analysis: Enumeration of Active Ingredient and Microbial Impurities Profile according to SANCO/12116/2012 on BAS 154 01 U (Including Amendment No. 1 and No. 2), DACO: M2.10.2, M2.9.2
2748164	2017, Product Characterization Table BAS 100 U ST, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5
2748165	2016, Velondis(TM) Flex Biofungicide: Group A - Product Identity, Composition and Analysis, DACO: M2.10.1, M2.10.2, M2.10.3, M2.11, M2.8, M2.9.1, M2.9.2, M2.9.3 CBI
2748167	2016, 5-batch Analysis - Enumeration of Active Ingredient and Microbial Impurities Profile According to SANCO/12116/2012 on BAS 100 02 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.10.2, M2.9.2
2748169	2016, Chemical Physical Characterization on Test Item BAS 100 02 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.12

2747997 2017, Product Characterization Table Velondis(TM) Extra, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5
2747998 2016, Velondis(TM) Extra Biofungicide Group A - Product Identity, Composition and Analysis, DACO: M2.10.1, M2.10.2, M2.10.3, M2.11, M2.8, M2.9.1, M2.9.2, M2.9.3 CBI
2747999 2016, 5-batch Analysis - Enumeration of Active Ingredient and Microbial Impurities Profile According to SANCO/12116/2012 on BAS 154 00 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.10.2, M2.9.2
2748000 2016, Chemical Physical Characterization on Test Item BAS 154 00 U (Including Amendment No. 1), DACO: M2.12

2.0 Santé humaine et animale

2748257 2017, Summary of Human Health and Safety Testing with *Bacillus subtilis* BU1814 Technical, DACO: M4.1
2748258 2017, Summary of infectivity, pathogenicity and toxicity testing with *Bacillus subtilis* BU1814 Technical, DACO: M4.2.1
2748259 2012, *Bacillus Subtilis* UD1022 BU1814 Acute Oral Toxicity (UDP) in Rats, DACO: M4.2.2
2748260 2016, BAS 100U Acute Oral Toxicity/Pathogenicity Study in Rats, DACO: M4.2.2
2748261 2012, *Bacillus Subtilis* UD1022 BU1814 Acute Inhalation Toxicity in Rats, DACO: M4.2.3
2748262 2016, BAS 100U Acute Pulmonary Toxicity/Pathogenicity Study in Rats, DACO: M4.2.3
2748263 2017, Summary of acute injection infectivity/pathogenicity (IV or IP) testing with *Bacillus subtilis* BU1814 Technical, DACO: M4.3.1
2748264 2016, *Bacillus subtilis* UD1022 BU1814 Intravenous Toxicity / Pathogenicity Study in Rats, DACO: M4.3.2
2748265 2012, *Bacillus Subtilis* UD1022 BU1814 Acute Dermal Toxicity in Rats, DACO: M4.4
2748266 2017, Summary of Irritation Testing with *Bacillus subtilis* BU1814 Technical, DACO: M4.5.1
2748267 2012, *Bacillus Subtilis* UD1022 BU1814 Acute Dermal Irritation in Rabbits, DACO: M4.5.2
2748268 2012, *Bacillus Subtilis* UD1022 BU1814 Acute Eye Irritation in Rabbits, DACO: M4.9
2748115 2017, Summary of Human Health and Safety Testing with Velondis(TM) Plus, DACO: M4.1
2748116 2016, BAS 154 01 U: Acute Oral Toxicity: Acute Toxic Class Method in Rats, DACO: M4.2.2
2748117 2016, BAS 154 01 U: Acute Inhalation Toxicity in Rats, DACO: M4.2.3
2748118 2016, BAS 154 01 U: Acute Dermal Toxicity in Rats, DACO: M4.4
2748119 2016, BAS 154 01 U: Primary Skin Irritation in Rabbits, DACO: M4.5.2
2748120 2016, BAS 154 01 U: Primary Eye Irritation in Rabbits, DACO: M4.9
2748171 2017, Summary of Human Health and Safety Testing with Velondis(TM) Flex, DACO: M4.1

2748173 2016, BAS 100 02 U: Acute Oral Toxicity: Acute Toxic Class Method in Rats, DACO: M4.2.2
2748175 2016, BAS 100 02 U: Acute Inhalation Toxicity in Rats, DACO: M4.2.3
2748177 2016, BAS 100 02 U: Acute Dermal Toxicity in Rats, DACO: M4.4
2748179 2016, BAS 100 02 U: Primary Skin Irritation in Rabbits, DACO: M4.5.2
2748181 2016, BAS 100 02 U: Primary Eye Irritation in Rabbits, DACO: M4.9
2748001 2017, Summary of Human Health and Safety Testing with Velondis(TM) Extra, DACO: M4.1
2748002 2016, BAS 154 00 U: Acute Oral Toxicity: Acute Toxic Class Method in Rats, DACO: M4.2.2
2748003 2016, BAS 154 00 U: Acute Inhalation Toxicity in Rats, DACO: M4.2.3
2748004 2016, BAS 154 00 U: Acute Dermal Toxicity in Rats, DACO: M4.4
2748005 2016, BAS 154 00 U: Primary Skin Irritation in Rabbits, DACO: M4.5.2
2748006 2016, BAS 154 00 U: Primary Eye Irritation in Rabbits, DACO: M4.9

3.0 Environnement

2748270 2016, *Bacillus subtilis* UD1022 BU1814 Acute MPCA Oral Toxicity Study in Bobwhite Quail, DACO: M9.2.1
2748271 2016, Response to Tier 1 Microbial Pesticide Data Requirements for *Bacillus subtilis* strain BU1814 Technical Biofungicide, DACO: M9.1, M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.4.2, M9.5.1, M9.5.2, M9.6, M9.8.1, M9.8.2
2748272 Hill IR and Gray TRG, 1967, Application of the Fluorescent-Antibody Technique to an Ecological Study of Bacteria in Soil, J. Bacteriology 93(6): 1888-1896, DACO: M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.5.1, M9.5.2, M9.6, M9.8.1
2748273 Siala A., Hill I R, and Gray TRG, 1973, Populations of Spore-forming Bacteria in an Acid Forest Soil, with Special Reference to *Bacillus subtilis*, J. Gen. Microbiol. 81: 183-190, DACO: M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.5.1, M9.5.2, M9.6, M9.8.1
2748274 Aly SM, Ahmed YAG, Ghareeb AAA, Mohamed MF., 2008, Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections, Fish & Shellfish Immunology 25: 128-136, DACO: M9.4.1
2748275 He S, Liu W, Zhou Z, Mao W, Ren P, Marubashi T and Ringo E., 2011, Evaluation of probiotic strain *Bacillus subtilis* C-3102 as a feed supplement for koi carp (*Cyprinus carpio*), J. Aquac. Res. Development S1: 47-53, DACO: M9.4.1
2748276 Arellano-Carbajal F and Olmos-Soto J., 2002, Thermostable -1,4- and -1,6-glucosidase enzymes from *Bacillus* sp. isolated from a marine environment, World J. Microbiol. & Biotechnology 18: 791-795, DACO: M9.4.2
2748277 Ivanova EP, Vysotskii MV, Svetashev VI, Nedashkovskaya OI, Gorshkova NM, Mikhailov VV, Yumoto N, Shigeri Y, Taguchi T and Yoshikawa S., 1999, Characterization of *Bacillus* strains of marine origin, Internatl. Microbiol 2: 267-271, DACO: M9.4.2
2748278 Patnayak S and Sree A., 2004, Screening of bacterial associates of marine sponges for single cell oil and PUFA, Letters in Applied Microbiology 40: 358-363, DACO: M9.4.2

2748279 Salinas I, Cuesta A, Esteban MA and Meseguer J., 2004, Dietary administration of *Lactobacillus delbriieckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses, Fish & Shellfish Immunology 19: 67-77, DACO: M9.4.2

2748281 Vaseeharan B. and Ramasamy P., 2002, Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*, Letters in Applied Microbiology 36: 83-87, DACO: M9.4.2

2748283 2016, Effects of the Microbial Pest Control Product BAS 100 AF U on the honeybee, *Apis mellifera*, in an acute oral and contact toxicity test, DACO: M9.5.1

2748284 Keysami MA, Mohammadpour M and Saad CR., 2011, Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) at different methods of administration to the feed, Aquacult Int. 20: 499-511, DACO: M9.5.2

2748285 Bacon CW, Yates IE, Hinton DM and Meredith F., 2000, Biological Control of *Fusarium moniliforme* in Maize, Environmental Health Perspectives 109: 325-332, DACO: M9.8.1

2748286 Kondoh M, Hirai M and Shoda M., 2000, Integrated Biological and Chemical Control of Damping-Off Caused by *Rhizoctonia solani* Using *Bacillus subtilis* RB 14-C and Flutolanil, J. Biosci. Bioeng. 91: 173-177, DACO: M9.8.1

2748287 Toro M, Azcon R and Barea JM, 1997, Improvement of Arbuscular Mycorrhiza Development by Inoculation of Soil with Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria To Improve Rock Phosphate Bioavailability (32P) and Nutrient Cycling, Appl. Environ. Microbiol. 63:4408-4412, DACO: M9.8.1

4.0 Valeur

2748187 2017, Field studies in support of the petition to register products containing *Bacillus subtilis* strain BU1814 with or without Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 as seed treatments on corn, soybean and wheat. - Corn trial reports, DACO: M10.2.2

2748189 2017, Field studies in support of the petition to register products containing *Bacillus subtilis* strain BU1814 with or without Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 as seed treatments on corn, soybean and wheat. - Soybean trial reports, DACO: M10.2.2

2748191 2017, Field studies in support of the petition to register products containing *Bacillus subtilis* strain BU1814 with or without Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 as seed treatments on corn, soybean and wheat. - WHEAT trial reports, DACO: M10.2.2

B. Autres renseignements pris en compte

i) Renseignements publiés

1.0 Chimie

2836295 Thomas. M. and H. Whittet. 1991., A typical meningitis complicating a penetrating head injury, J. Neuro. Neurosurg. Psychia. 54(1): 91-92., DACO: M2.14, M4.9

2836291 USEPA 1997., 1997, Final Risk Assessment of *Bacillus subtilis*. February 1997. Available online December 7, 2017; https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/fra009.pdf, DACO: M2.14

2835748 Aoki, T, H. Sunahara, K. Sugimoto, T. Ito, E. Kanai, and Y. Fuji, 2014, Infective endocarditis of the aortic valve in a Border collie dog with patent ductus arteriosus, J. Vet Med. Sci. 73(3): 331-33., DACO: M2.14, M4.9

2835732 Apertroaie-Constantin, C., Mikkola, R., Andersson, M.A., Teplova, V., Suominin, I., Johansson, T. and Salkinoja-Salonen, M., 2008, *Bacillus subtilis* and *B. mojavensis* strains connected to food poisoning produce the heat stable toxin amylosin, 2009. J Appl Microbiol 106, 1976-1985., DACO: M2.14,M4.9

2835736 Biagini, R.E. R. J. Driscoll, D. I. Bernstein, T. G. Wilcox, G. M. Henningsen, B. A. MacKenzie, G. A. Burr, J. D. Scinto, and E. S. Baumgardner, 1995, Hypersensitivity reactions and specific antibodies in workers exposed to industrial enzymes at a biotechnology plant, 1996. J. Appl. Toxicol. 16(2): 139-145., DACO: M2.14, M4.9

2835737 De Boer, A. S. and B. Diderichsen, 1991, On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review, Appl. Microbiol. Biotechnol. 36: 1-4., DACO: M2.14, M4.9

2835738 Duc, L.H., Logan, N.A., Sutherland, A.D., Taylor, J. and Cutting, S.M., 2004, Cases of emesis associated with bacterial contamination of an infant breakfast cereal product, Int J Food Microbiol 102, 245¿251, DACO: M2.14, M4.9

2835739 Dutkiewicz, J, C. Skorska, J. Milanowski, B. Mackiewicz, E. Krysinska-Traczyk, E. Dutkiwicz, A. Matuszyk, J. Sitkowska, and M. Golec, 2001, Response of herb processing workers to work-related airborne allergens, Ann. Agric. Environ. Med. 8: 275-283, DACO: M2.14, M4.9

2823554 Fall, R., Kinsinger, R.F., and Wheeler, K.A., 2003, A simple method to isolate biofilm-forming *Bacillus subtilis* and related species from plant roots, Syst Appl Microbiol 27: 372¿379, DACO: M2.7

2835745 Fossum, K. H. Kerikstad, M. Binde, and K-E. Pettersen, 1986, Isolation of *Bacillus subtilis* in connection with bovine mastitis, Nord Bet Med. 38: 233-236., DACO: M2.14, M4.9

2835740 From, C., Pukall, R., Schumann, P., Hormaza´bal, V. and Granum, P.E., 2004, Toxin-producing ability among Bacillus spp. outside the *Bacillus cereus* group, Appl Environ Microbiol 71, 1178¿1183., DACO: M2.14, M4.9

2835742 Goto, K., Omura, T., Hara, Y., Sadaie, Y., 1999, Application of the partial 16S rDNA sequence as an index for the rapid identification of species in the genus *bacillus*, J. Gen. Appl. Microbiol. 46: 1-8., DACO: M2.14, M4.9

2838731 Johnson, C. L., I. L. Berstein, J. S. Gallagher, P. F. Boventre, and S. M. Brooks, 1980, Familial hypersensitivity pneumonitis induced by *Bacillus subtilis*, Am. Rev. Resp. Dis. 122: 339-348., DACO: M2.14, M4.9

2835743 Klich, M.A. A. R. Lax, and J. M. Bland, 1991, Inhibition of some mycotoxigenic fungi by iturin A, a peptidolipid produced by *Bacillus subtilis*, Mycopathologia. 116: 77-80, DACO: M2.14, M4.9

2836296 Raza et al. 1993. Comparison of vaginal bacterial flora in teddy goats with and without reproductive disorders. Indian J. Dairy Sci. 46: 1-5

2838698 Logan, N. A., 2011, *Bacillus* and relatives in foodborne illness, J. Appl. Microbiol. 112: 417-429, DACO: M2.14, M4.9

2835746 Maget-Dana, R. and F. Peyoux, 1993, Iturins a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physiochemical properties, Toxicology. 87: 151-174, DACO: M2.14, M4.9

2835747 Matarante A., Baruzzi F., Cocconcelli P. S., and Morea M., 2004, Genotyping and toxigenic potential of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* strains occurring in industrial and artisanal cured sausages, Appl. Env. Microbiol. 70: 5168-5176, DACO: M2.14, M4.9

2835749 Oggioni, M. R., G. Pozzi, P. E. Valensin, P. E. Galieni and C. Bigazzi, Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*, H. Clin. Microbiol. 36(1): 325-326., DACO: M2.14, M4.9

2838730 Rosenkvist, H, and A. Hansen, 1994, Contamination profiles and characterisation of *Bacillus* species in wheat bread and raw materials for bread production, Int. J. Food Micro. 26: 353-363, DACO: M2.14, M4.9

2839101 Schleifer KH, 2009, Phylum XIII. Firmicutes Gibbons and Murray 1978, 5 (Firmacutes [sic] Gibbons and Murray 1978, 5), In: De Vos P. et al. (Eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, New York, NY, DACO: M2.14